



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Descripción de características demográficas y clínicas de pacientes fallecidos por infección respiratoria aguda (IRA) en Colombia durante los años 2009 a 2013

Héctor Julio Amaya Santiago

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Interna
Bogotá, Colombia

2015

Descripción de características demográficas y clínicas de pacientes fallecidos por infección respiratoria aguda (IRA) en Colombia durante los años 2009 a 2013

Héctor Julio Amaya Santiago

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Especialista en Infectología

Director:

Dr. Carlos Humberto Saavedra Trujillo

Codirectora:

Msc. Juliana Barbosa Ramírez

Grupo de Investigación:

Enfermedades infecciosas

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Interna

Bogotá, Colombia

2015

*Gracias a DIOS por permitir y darme la oportunidad de
aprender cada día más*

*A mis padres y hermanas por el apoyo
incondicional y su preocupación en todo momento
para que yo pudiera alcanzar esta gran meta*

*A mis Profesores que son el reflejo de
nuestros sueños*

Agradecimientos

A la Doctora Juliana Barbosa, pues sin ella, no se hubiese podido gestar la idea de este proyecto y por toda su colaboración durante su ejecución.

Al Profesor Carlos Saavedra, quien siempre se ha preocupado porque tengamos mejores métodos de aprendizaje tanto en lo académico, como en lo personal, para ser mejores médicos y sobre todo ser mejores seres humanos.

A la Profesora Sonia Cuervo que siempre ha sido y será nuestra segunda madre.

Resumen

Objetivo: Describir las características clínicas, demográficas, aislamientos virales y hallazgos de histopatología de los individuos fallecidos por Infección Respiratoria Aguda (IRA) notificados al Instituto Nacional de Salud (INS) durante los años 2009 a 2013. **Métodos:** Estudio observacional, descriptivo, retrospectivo, donde se revisaron las fichas epidemiológicas y reportes de estudios de virología e histopatología de muestras respiratorias de individuos que fallecieron con diagnóstico de IRA, recibidas en el Grupo de Virología del INS. **Resultados:** 1604 fallecidos, 55% hombres, 46.5% tenían entre 20 y 59 años, 13,5% recibieron antiviral. RT-PCR positiva en 18.3% de los casos, la mayor positividad se concentró en los individuos entre 20 y 59 años, los virus más frecuentes fueron: influenza A(H1N1)pdm09 13.9%, A(H3N3) 1.9% e influenza B 0.5%; los hallazgos de histopatología de las muestras de tracto respiratorio fueron: 23,2% sin evidencia de neumonitis/neumonía, 27.8% con neumonitis/neumonía viral, 22.8% con neumonía bacteriana y 13.9% con neumonía mixta; 1% con evidencia de infección fúngica y 0.6% con infección por micobacterias. La letalidad de IRA fue mayor en los individuos que no recibieron antiviral o antibiótico OR 2.80 (IC 95% 2.29 - 3.43) y 3.19 (IC 95% 2.63 - 3.86), respectivamente. **Conclusión:** El principal agente responsable de los casos fatales de IRA confirmadas por laboratorio durante los años 2009 a 2013 fue el virus influenza A(H1N1)pdm09. La mayor letalidad se presentó en los individuos entre 20 y 59 años. Es posible que la administración de oseltamivir y antibióticos disminuyen la letalidad en IRA.

Palabras clave (DeCS): Vigilancia Epidemiológica, Infecciones del Sistema Respiratorio, Gripe Humana, Virus de la Influenza A, Neumonía, Neumonía Viral, Mortalidad.

Abstract

Objective: To describe the clinical, demographic, viral isolates and histopathology findings of individuals who died of acute respiratory infection (ARI) reported to the Colombian National Institute of Health over the period 2009 to 2013. *Methods:* Observational, descriptive, retrospective study, where the epidemiological records and virology and histopathology studies reports of respiratory samples from individuals who died with a diagnosis of ARI, received at the Colombian National Institute Health's Virology Group. *Results:* 1604 deaths, 55% male, 46.5% were between 20 and 59 years, 13.5% received antiviral. RT-PCR was positive in 18.3% of cases, higher positivity in individuals between 20 and 59 years, the most frequent viruses were influenza A(H1N1)pdm09 13.9%, A(H3N3) 1.9% and influenza B 0.5 %; histopathological findings of the respiratory tract samples were: 23.2% without evidence of pneumonitis/pneumonia, 27.8% cases with pneumonitis/viral pneumonia, 22.8% with bacterial pneumonia and 13.9% with mixed pneumonia; 1% cases with evidence of fungal infection and 0.6% with mycobacterial infection. The lethality of ARI was higher in individuals who did not receive antiviral or antibiotic OR 2.80 (95% CI 2.29 - 3.43) and 3.19 (95% CI 2.63 - 3.86), respectively. *Conclusion:* The main responsible for fatal cases of laboratory-confirmed ARI during the years 2009 to 2013 was 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus. Most lethality occurred in individuals between 20 and 59 years. Oseltamivir and antibiotics could reduce lethality in ARI.

Keywords (MeSH): Sentinel Surveillance, Respiratory Tract Infections/epidemiology, Respiratory Tract Infections/etiology, Influenza, Human/epidemiology, Influenza, Human/mortality, Pneumonia/epidemiology, Mortality

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Lista de figuras.....	X
Lista de tablas	XI
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XII
Introducción	13
1. Marco Teórico.....	15
1.1 Epidemiología infección respiratoria aguda.....	15
1.2 Influenza	16
1.2.1 El virus	17
1.2.2 Manifestaciones clínicas	18
1.2.3 Diagnóstico	18
2. Materiales y métodos	21
2.1 Diseño del estudio	21
2.2 Criterios de inclusión	21
2.3 Criterios de exclusión.....	21
2.4 Metodología del estudio.....	22
2.5 Análisis estadístico	25
3. Resultados.....	26
4. Discusión	45
5. Conclusiones.....	53
6. Recomendaciones.....	54
7. Bibliografía	55

Lista de figuras

	Pág.
Figura 2-1: Flujograma para la obtención de la información.	24
Figura 3-1: Casos fatales con estudio de biología molecular e histopatología en el INS durante los años 2009 a 2013.	27
Figura 3-2: Número de casos notificados y casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado reportados al INS durante los años 2009 a 2013.	28
Figura 3-3: Número de casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado durante los años 2009 a 2013.	28
Figura 3-4: Número de casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado reportados por departamentos durante los años 2009 a 2013.	31
Figura 3-5: Número de casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado por departamentos y densidad poblacional.	32
Figura 3-6: Letalidad de ESI, IRAG e IRAG inusitado durante los años 2009 a 2013.	33
Figura 3-7: Letalidad de ESI, IRAG e IRAG inusitado según el índice de competitividad departamental.	34
Figura 3-8: Casos fatales reportados de ESI, IRAG e IRAG inusitado al INS durante los años 2009 a 2013 según el grupo etario.	35
Figura 3-9: Positividad de RT- PCR de acuerdo al día de realización de la prueba.	37

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 3-1: Individuos notificados por IRA al SIVIGILA durante los años 2009 a 2013.	26
Tabla 3-2: Tasa de mortalidad de ESI, IRAG e IRAG inusitado durante los años 2009 a 2013	29
Tabla 3-3: Procedencia casos notificados y fatales de ESI, IRAG, IRAG inusitado en Colombia durante los años 2009 a 2013.	30
Tabla 3-4: Casos fatales de ESI, IRAG, IRAG inusitado que fueron hospitalizados según el grupo etario.	35
Tabla 3-5: Administración de antibiótico y/o antiviral en casos fatales y no fatales.	36
Tabla 3-6: Administración de antiviral en casos fatales y no fatales.	36
Tabla 3-7: Administración de antibiótico en casos fatales y no fatales.	36
Tabla 3-8: Resultado de RT-PCR en muestras respiratorias.	37
Tabla 3-9: Positividad de RT-PCR en muestras respiratorias según el grupo etario.	38
Tabla 3-10: Frecuencia de aislamientos virales en muestras respiratorias.	39
Tabla 3-11: Distribución de los virus influenza por grupos etarios.	39
Tabla 3-12: Conclusión de estudio de histopatología de muestras respiratorias y resultado de RT-PCR.	40
Tabla 3-13: Distribución de los hallazgos histopatológicos según el resultado de la RT-PCR para virus influenza.	41
Tabla 3-14: Distribución de los aislamientos virales según los hallazgos de histopatología.	41
Tabla 3-15: Distribución de los hallazgos histopatológicos según el resultado de la RT-PCR para influenza.	41
Tabla 3-16: Hallazgos histopatológicos según la administración de antiviral.	42
Tabla 3-17: Hallazgos histopatológicos según la administración de antibiótico.	42
Tabla 3-18: Hallazgos microscópicos en tráquea, bronquio y pulmón en muestras positivas para virus influenza.	43

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
A(H1N1)pdm09	Virus influenza A, subtipo H1N1 pandémico 2009
A(H1N1)	Virus influenza A, subtipo H1N1
A(H3N2)	Virus influenza A, subtipo H3N2
ARN	Ácido ribonucleico
BAAR	Bacilo ácido alcohol resistente
CIE-10	Código internacional de enfermedades, décima versión
ESI	Enfermedad similar a influenza
IC	Intervalo de confianza
ICD	Índice de Competitividad Departamental
INS	Instituto Nacional de Salud
IRA	Infección Respiratoria Aguda
IRAG	Infección Respiratoria Aguda Grave
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds ratio
SIVIGILA	Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública
RT-PCR	Amplificación en cadena de la polimerasa con transcripción reversa
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia humana

Símbolo	Término	Definición
n	Número	Número de casos

Introducción

La infección respiratoria aguda (IRA) representa uno de los principales motivos de consulta en los servicios de consulta externa y urgencias, incluye un amplio espectro de enfermedades, desde formas leves que no precisan de atención médica hasta graves problemas clínicos que pueden conducir a la muerte; la mortalidad por IRA es frecuente, con mayor impacto en los extremos de la vida; los cuadros clínicos más severos de la enfermedad son causados por neumonía de etiología viral, bacteriana o mixta (1-3), caracterizados por su rápida instauración, deterioro progresivo y alta letalidad en ausencia de un manejo adecuado. Teniendo en cuenta la importancia de la infección respiratoria por su alta morbilidad y mortalidad, se ha desarrollado un sistema de vigilancia y control en Salud Pública (4-6), donde se caracterizan de manera operativa los espectros de enfermedad por IRA, permitiendo su notificación individual, de manera inmediata o semanal, en la que se definen la Enfermedad similar a la influenza (ESI), Infección Respiratoria Aguda Grave (IRAG) e IRAG inusitado y se hace una vigilancia epidemiológica mediante la implementación de 4 estrategias: vigilancia centinela ESI – IRAG, morbilidad por IRA, IRAG inusitado y mortalidad por IRA en menores de 5 años (7), permitiendo recolectar y analizar los datos de IRA para la introducción de intervenciones en salud.

En Colombia todavía no se han descrito las posibles causas ni los agentes infecciosos encontrados en los pacientes que han fallecido con diagnóstico de IRA, respecto a la etiología, se cree que en su gran proporción son causados por infecciones virales (8), sin embargo; para el año 2014 y 2013 solo 15.7% y 16.3% de todos los casos de IRAG y 9.7% y 8.7% de IRAG inusitado fueron confirmados por laboratorio, respectivamente (9, 10); por lo que, es necesario e indispensable describir las características clínicas de estos pacientes, los hallazgos de histopatología y aislamientos virales de las muestras respiratorias, para aclarar cuál es la etiología más frecuente (viral o bacteriana) de los casos fatales de IRA. Conocer quienes fallecen y cuáles son las principales causas de las muertes por IRA permitirá generar pautas de diagnóstico temprano y tratamiento oportuno, con el propósito de disminuir la morbilidad y letalidad por infección respiratoria

aguda,

El planteamiento de este estudio se centra en la revisión de los casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado (7) notificados al Instituto Nacional de Salud durante los años 2009 a 2013, con el objetivo de describir las características demográficas y clínicas de los individuos fallecidos, además de revisar los aislamientos virales y hallazgos histopatológicos de las muestras respiratorias y con la información obtenida generar conocimiento, que contribuya al manejo de la infección respiratoria aguda grave e inusitada en nuestro país.

1. Marco Teórico

La infección respiratoria aguda comprende un gran grupo de enfermedades causadas por virus o bacterias, de alta transmisibilidad y diseminación, que pueden comprometer el aparato respiratorio superior e inferior, con una duración usual menor a 2 semanas (7), es uno de los motivos de consulta más frecuentes en el país, constituyendo entre la primera y segunda causa de atención médica en los servicios ambulatorio, urgencias y hospitalización (11); su espectro clínico varía desde el resfriado común (12, 13), hasta la falla ventilatoria (14) y muerte (15). Las principales causas de mortalidad son secundarias al compromiso del sistema respiratorio inferior, que clínicamente se presentan como casos de IRAG y que pueden ser causados por neumonía viral, principalmente por virus influenza A (14, 16) y neumonía bacteriana grave (17). Los grupos etarios más afectados son los menores de 5 y mayores de 65 años, en los cuales, se aprecia las mayores tasas de letalidad (18, 19).

1.1 Epidemiología infección respiratoria aguda

La infección respiratoria aguda se distribuye de manera universal, siendo su prevalencia mayor en los países con patrones de desarrollo no convencional (20); es la causa de hasta 4 millones de muertes anualmente a nivel mundial, especialmente en los menores de 5 años (8). Durante el año 2014 en nuestro país se registraron 5.468.869 consultas en urgencias y consulta externa por IRA, representando 7.8% del total de consultas (10). IRAG corresponde a 7.3% de los ingresos a hospitalización (201.943 casos) y 7.6% a UCI (14.151 casos). La letalidad de IRA en Colombia para el año 2014 corresponde a 2883 casos, explicando 4.6% de todas las muertes registradas, menor con respecto a los 3521 fallecimientos notificados para el año 2013 (9, 10). Durante el año 2014 se notificaron 7986 casos de ESI - IRAG y 1721 casos de IRAG inusitado; respecto a ESI - IRAG, 59% de todos los casos de ESI y 66% de IRAG corresponden a

niños menores de 5 años (10). Las regiones con mayor número de casos de IRA en los diferentes servicios de atención (consulta externa, urgencias, hospitalización y UCI) fueron en orden descendente: Bogotá, Antioquia y Valle del Cauca. De los 1721 casos de IRAG inusitado, la población principalmente afectada estaba entre los 14 y 44 años (51.2% de todos los casos) y se registró una mortalidad de 7% (menor en comparación con la del año 2012 que fue 6.2%), los entes territoriales con mayor número de casos de IRAG inusitado fueron Antioquia (435 casos), Bogotá (289 casos), Valle del Cauca (218 casos), Huila (127 casos), Nariño (103 casos), Cesar y Santander (75 casos en cada departamento). La mortalidad por IRA en menores de 5 años para el año 2014 fue de 518 casos, con una tasa de mortalidad de 12 por cada 100.000 menores de 5 años, mayor que la registrada en los años anteriores 10.7 y 10.6 por cada 100.000 para los años 2013 y 2012, respectivamente, fue similar al año 2011 (12.4/100.000) y mayor que la del año 2010 (8.1/100.000) (9, 10, 21-23).

1.2 Influenza

La infección respiratoria aguda causada por los virus influenza, es una enfermedad frecuente, de alta contagiosidad, pues afecta a nivel mundial entre el 5 al 10% de los adultos y 20 a 30% de la población infantil (24), con diferentes grados de expresión clínica, desde formas leves autolimitadas hasta casos graves con desenlaces fatales (25), causa en el año entre 250 a 500 mil fallecimientos (24); informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) muestran que para los meses de enero y febrero de 2015 las pruebas positivas para virus influenza correspondían a 23 - 25% de todas las muestras examinadas (26-29), este porcentaje viene en disminución con el transcurso de los meses, pues para finales de 2015 es de 4.6%, como se registra en el informe correspondiente al periodo comprendido entre el 21 de septiembre al 4 de octubre de 2015, donde se evaluaron 49.103 muestras de 81 países y solo 2.240 fueron positivas para influenza, de éstas, 66.7% influenza tipo A y 33.3% a influenza tipo B, dentro de los virus influenza tipo A, 29.8% correspondía a influenza A (H1N1)pdm09 y 70.2% influenza A(H3N2); dentro de los aislamientos de influenza B, 66.7% correspondía al linaje *Yamagata* y 33.3% al linaje *Victoria* (30). La infección por virus influenza se puede presentar de manera estacional, pandémica y zoonótica; la influenza estacional es causada por virus que circulan principalmente en los meses de invierno, causan infección en humanos cada año y puede generar enfermedad de leve a

moderada y fatal en los pacientes de alto riesgo (embarazadas, edades extremas, inmunosupresión y comorbilidad); la influenza pandémica es causada por virus que previamente no habían circulado y donde casi todos los individuos son susceptibles por ausencia de inmunidad, explicando el gran número de personas afectadas y mayores casos de enfermedad grave; y la influenza zoonótica, donde los virus que circulan en animales (aves, cerdos, caballos) infectan al hombre (31). Dentro del tratamiento disponible se encuentran los antivirales bloqueadores de los canales M2 e inhibidores de la neuraminidasa (32, 33), aunque con efectividad discutida (34), además se implementan medidas de prevención (vacunación virus inactivados), que constituye una de las principales herramientas para el control de la influenza (33).

1.2.1 El virus

El agente causal de la influenza corresponde a un virus ARN segmentario de sentido negativo, pertenece a la familia Orthomyxoviridae y se clasifica en tres tipos (A, B y C) con base en sus características antigénicas (35); el virus influenza, principalmente el tipo A, se caracteriza por circular en varios reservorios biológicos, por lo que se encuentra ampliamente extendido, con una alta variabilidad genética y variaciones antigénicas menores o mayores, por lo que la inmunidad del huésped ante las nuevas variaciones es escasa, explicando su presentación en epidemias y pandemias; no solo infecta al hombre (gripa humana), también, aves (gripe aviar), cerdos (gripe porcina) y caballos (gripe equina), entre otros; además, tiene capacidad de recombinación entre varios linajes (humano, aviar, porcino) en un hospedero común (36), como el virus A(H1N1)pmd09 (37). Los subtipos de influenza A se designan según sus proteínas de superficie: hemaglutinina (16 antígenos) y neuroaminidasa (9 antígenos) (35).

La infección por influenza data desde 412 años antes de cristo, donde ya Hipócrates describía una enfermedad caracterizada por fiebre y síntomas respiratorios (38), el virus de la influenza fue reconocido en 1933 (39), y se documentan pandemias con altas tasas de mortalidad, la primera en 1918 – 1919 en Europa, Asia y Norteamérica, causada por influenza A(H1N1), llamada la gripe española, causando la muerte a 50 millones de personas aproximadamente, principalmente individuos menores de 65 años; posteriormente en 1957 - 1958 en Asia (gripe asiática) por el virus A(H2N2) y luego en 1968 - 1969 Hong Kong (gripe de Hong Kong) por el virus A(H3N2), ambas con mucha

menor mortalidad, aproximadamente 4 millones y 1.5 millones, respectivamente (40, 41); y finalmente en el año 2009 la influenza pandémica A(H1N1)(42), virus que contiene fragmentos de genes a partir de tres fuentes: humana, aviar y porcina (37), durante la cual, fallecieron aproximadamente 201.200 individuos, 65% correspondía a personas entre 18-64 años, sumado a 83.300 causas cardiovasculares atribuibles a la infección por influenza, para un total de 284.400 (43).

1.2.2 Manifestaciones clínicas

Después de un periodo de incubación de 1 a 2 días, los pacientes cursan con fiebre, cefalea, malestar general, mialgias y anorexia, el predominio de los síntomas sistémicos diferencian la influenza del resfriado común, los síntomas pueden durar menos de 5 días, sin embargo, el malestar general y la tos puede permanecer hasta por 2 semanas (44). Algunos pacientes progresan con los síntomas hasta presentar cuadros de influenza complicada, denominada: neumonía viral primaria (45), caracterizada por persistencia de fiebre, tos, disnea y cianosis (44), radiografías de tórax con infiltrados intersticiales, vidrio deslustrado bilaterales y ocasionalmente evidencia de consolidaciones (46), los casos de mayor mortalidad corresponden a los pacientes con edades extremas, enfermedades cardiovasculares, pulmonares y neuromusculares, inmunosuprimidos y embarazadas (47, 48), el virus influenza es la primera causa de neumonía viral en los adultos y solo es superado por el virus sincitial respiratorio en los niños (49), Otros pacientes presentan neumonía bacteriana secundaria, usualmente los pacientes cursan con los síntomas típicos de influenza, luego presentan algún grado de mejoría y posteriormente reaparece la fiebre, tos, expectoración y disnea, con radiografías de tórax que evidencian áreas de consolidaciones, los gérmenes bacterianos principalmente implicados son *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus* (44, 50, 51).

1.2.3 Diagnóstico

Debido a que el cuadro clínico de la influenza puede ser similar a otras entidades clínicas, principalmente el resfriado común y otras infecciones virales (44), el diagnóstico a partir de los síntomas tiene una baja sensibilidad (64 - 65%) y baja especificidad (67%) (52), en los estudios que tienen en cuenta la sintomatología de los pacientes, la ausencia de tos, tiene un alto valor predictivo negativo (100%) para descartar la enfermedad (53).

Actualmente se dispone de múltiples herramientas diagnósticas, que incluyen métodos directos (Reacción en cadena de la polimerasa - transcriptasa reversa (RT-PCR), aislamiento viral por medio de cultivo celular, inmunofluorescencia, inmunoensayo para detección de antígenos virales) e indirectos (inmunoensayo, inmunohemaglutinación, fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta) (54). Existen pruebas rápidas para la detección de antígenos de virus influenza A e influenza B o influenza A+B, caracterizadas por una baja sensibilidad (62.3%) pero con alta especificidad (98.5%), la sensibilidad es un 13% mayor en niños, probablemente relacionada con mayor cantidad de antígenos circulantes (55), un resultado positivo, durante los periodos de alta actividad de influenza podría confirmar la presencia de la enfermedad; en caso de un resultado negativo se indican métodos directos, como la detección del ácido nucleico del virus, seguido de una amplificación en cadena de la polimerasa y de una transcripción reversa (RT-PCR), con una alta sensibilidad y especificidad, se tiene resultados rápidos y se pueden diferenciar entre los tipos y subtipos de influenza (56, 57). Las pruebas serológicas no se usan rutinariamente durante la enfermedad aguda, pues requieren muestras pareadas, usualmente su indicación se limita para el diagnóstico retrospectivo; el cultivo viral se constituye en la prueba de oro para la confirmación y complementariedad de las pruebas iniciales en vigilancia en Salud Pública (56).

Teniendo en cuenta que no solo el virus influenza es el causante de IRA y que existe un amplio número de virus que también pueden causar infección en el tracto respiratorio (58, 59) y ante la imposibilidad de confirmar un agente viral específico por las características del cuadro clínico (44), e incluso por la epidemiología, se requiere de un arsenal diagnóstico, en el que se incluya, la detección de todos o al menos, la mayoría de virus implicados en las infecciones respiratorias (60), aumentando la capacidad diagnóstica a través de las pruebas aplicadas a los pacientes con IRA. La detección de antígenos mediante la amplificación de ácidos nucleicos por PCR/RT-PCR es la prueba preferida y más utilizada para el diagnóstico etiológico de la infección respiratoria aguda (61, 62); existe en el mercado un gran número de plataformas comerciales disponibles, con la capacidad de detectar hasta 20 virus respiratorios simultáneamente por RT-PCR multiplex (63), las cuales, se pueden realizar en varias muestras respiratorias (hisopado y/o aspirado nasofaríngeo, lavado broncoalveolar y tejido), y con la ventaja de obtener los resultados en el transcurso de 3 a 7 horas (60). El rendimiento diagnóstico para la detección viral en muestras respiratorias mediante RT-PCR y otras técnicas de biología

molecular, varían según el tipo de virus a identificar y los diferentes blancos genéticos de reconocimiento, la edad del paciente (si es niño o adulto) y la temporalidad respecto al inicio de los síntomas y la toma de la muestra (60, 64); aunque por lo general, en el caso de la RT-PCR, es una herramienta diagnóstica con alta sensibilidad y especificidad (mayores a 90%) en cualquier escenario que se emplee (60, 65, 66).

2. Materiales y métodos

2.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo, donde se revisaron las fichas epidemiológicas y reportes de estudios de virología e histopatología de muestras respiratorias de pacientes que fallecieron con diagnóstico de Infección Respiratoria Aguda (IRA) recibidas en el Grupo de Virología del Instituto Nacional de Salud durante los años 2009 a 2013.

2.2 Criterios de inclusión

Individuos quienes fallecieron cumpliendo los criterios de definición operativa de caso de enfermedad similar a influenza (ESI), infección respiratoria aguda grave (IRAG) e IRAG inusitado, que fueron notificados al Instituto Nacional de Salud durante los años 2009 a 2013 y cuyas muestras respiratorias fueron estudiadas en el Grupo de Virología del INS.

2.3 Criterios de exclusión

Casos con más de 14 días de evolución de los síntomas.

2.4 Metodología del estudio

El estudio se fundamenta en la revisión de los datos consignados en las fichas epidemiológicas y los resultados de los estudios realizados (biología molecular e histopatología) de las muestras respiratorias remitidas al grupo de Virología del Instituto Nacional de Salud de los pacientes que fallecen cumpliendo los criterios de definición operativa de ESI, IRAG e IRAG inusitado. La secuencia de procesos desde el ingreso de las fichas epidemiológicas hasta la creación de base de datos es la siguiente:

1. Ingresa al Instituto Nacional de salud la ficha epidemiológica y muestras respiratorias (hisopado faríngeo, aspirado nasofaríngeo, lavado broncoalveolar) o muestras de tejido (no solo tejido de tracto respiratorio) tomados por viscerotomía provenientes de individuos, que fallecieron cumpliendo criterios de las definiciones operativas de ESI, IRAG e IRAG inusitado. (Estas muestras se envían al Grupo de Virología y/o Patología del INS)
2. En el Grupo de Virología a las diferentes muestras respiratorias (hisopado faríngeo, aspirado nasofaríngeo, lavado broncoalveolar, muestras de tejido (pulmón, bronquio, tráquea) se le asigna un código interno y se procesan de la siguiente manera:
 - ✓ Realización de alícuota de 140 µL para la extracción de ácidos nucleicos
 - ✓ Extracción ácidos nucleicos mediante un kit comercial Mini Kit (Qiagen) para recuperar un volumen final del 100 µL de extracto, que contiene 60 µL de ácidos nucleicos.
 - ✓ RT PCR tiempo real influenza (protocolo CDC ref I-007-05).
 - ✓ RT PCR tiempo real virus no flu (protocolo CDC).

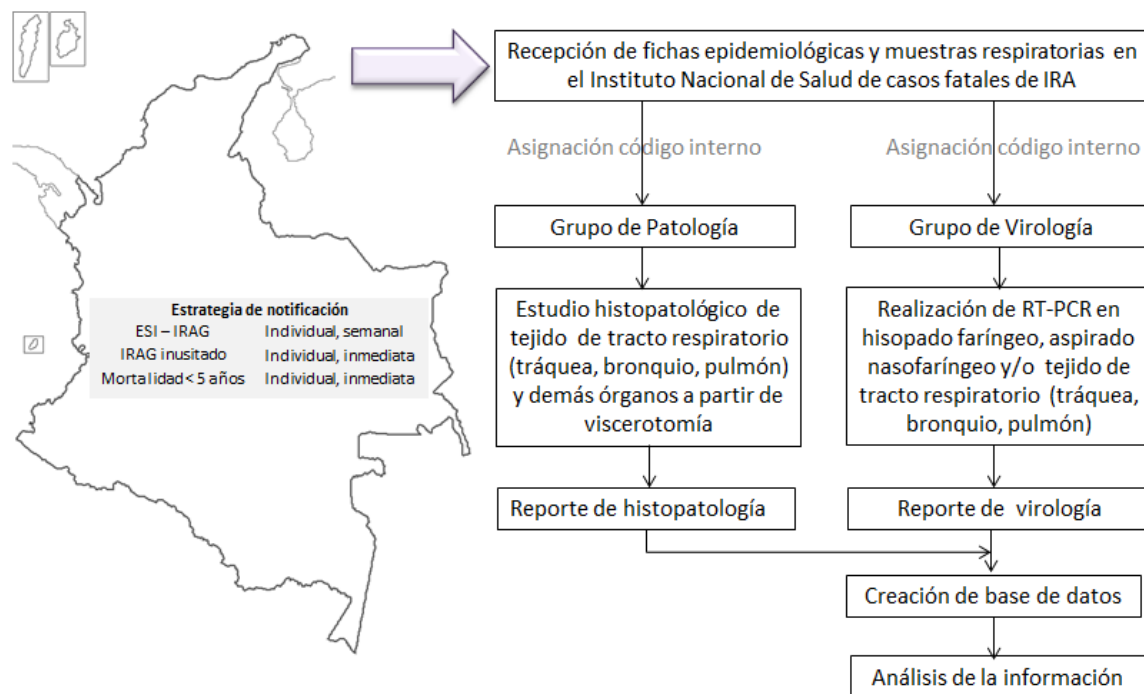
Para la detección de los virus en las muestras respiratorias se incluye un panel de cebadores (primers) y de sondas (probes) de hidrólisis con marcación dual (Taqman®) que son utilizadas en las pruebas de RT-PCR en tiempo real para la detección de los virus respiratorios. Después de la realización de las técnicas de biología molecular podemos tener los siguientes aislamientos virales (en una misma muestra se puede obtener más de un agente viral):

- Influenza A(H1N1)pdm09

- Influenza A(H3N1)
 - Influenza B
 - Virus sincital respiratorio
 - Parainfluenza tipo 1
 - Parainfluenza tipo 2
 - Parainfluenza tipo 3
 - Parainfluenza tipo 4
 - Adenovirus
 - Rinovirus
 - Metapneumovirus humano
 - Bocavirus humano
 - Enterovirus
 - Coronavirus 229 E
 - Coronavirus OC43
 - Coronavirus NL63
 - Coronavirus HKU1
3. En el Grupo de Patología se hace el estudio histopatológico de las muestras enviadas al INS (tomadas por viscerotomía), para la introducción de los resultados de histopatología en la base de datos, se incluyeron los hallazgos histopatológicos más relevantes encontrados en tráquea, bronquio y pulmón; adicionalmente se consignó la conclusión hecha por el Patólogo que examina las muestras de tejido con respecto a la presencia de neumonía viral, bacteriana, micótica o tuberculosa, ausencia de neumonitis/neumonía viral o neumonía bacteriana o muestra no adecuada para el estudio.
4. Inicialmente se incluyeron todos los casos fatales en el Grupo de Virología, cuyas muestras respiratorias se analizaron mediante técnicas de biología molecular, se aplicaron los criterios de exclusión (duración e síntomas más de 14 días) y luego se revisó si tenían estudio de histopatología; teniendo así, información de casos fatales con estudio de virología e histopatología y casos fatales solo con estudio de virología.

5. Con la información disponible en el Grupo de Virología del Instituto Nacional de Salud de los pacientes que fallecieron cumpliendo los criterios de definición operativa de ESI, IRAG e IRAG inusitado, las fichas epidemiológicas, los estudios de virología e histopatología de muestras respiratorias se diseñó una base de datos para su análisis. El flujograma de los procesos ya descrito desde el ingreso de las fichas epidemiológicas y las muestras respiratorias hasta la obtención de la información se describe en la figura 2-1.

Figura 2-1: Flujograma para la obtención de la información.



2.5 Análisis estadístico

Los datos recolectados a partir de las fichas de notificación obligatoria, resultados de virología y de histopatología de las muestras respiratorias pertenecientes a los casos fatales de IRA de los años 2009 a 2013 enviadas al Instituto Nacional de Salud se almacenaron en una base diseñada en el programa Microsoft office Excel 2010 y posteriormente se analizaron por medio del software SPSS versión 22.0. Se hizo un análisis descriptivo utilizando medidas de tendencia central (media y mediana), de posición (cuartiles) y de dispersión (desviación estándar) para las variables cuantitativas y proporciones para variables categóricas (cualitativas).

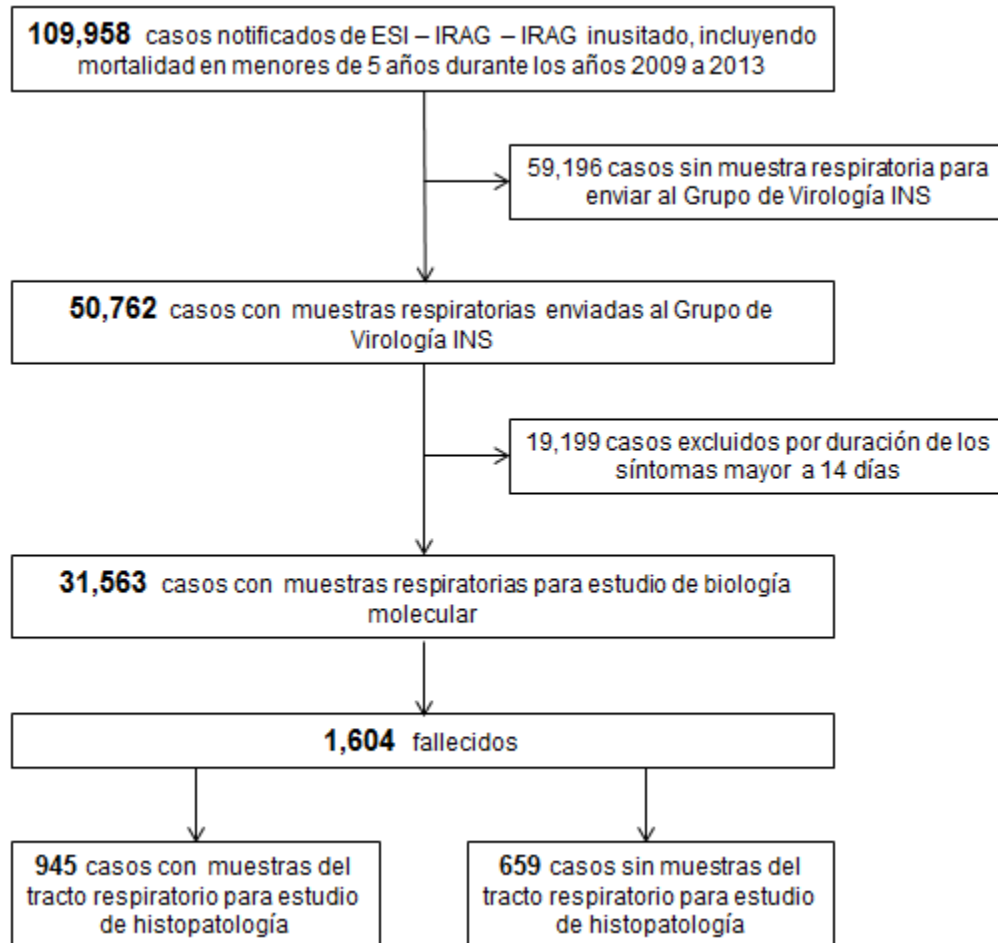
3. Resultados

Mediante la modalidad de reporte colectivo semanal, teniendo en cuenta los códigos CIE-10 desde J00 a J22, durante los años 2009 a 2013 se reportaron en Colombia 26.873.533 casos de infección respiratoria aguda, distribuidos en los servicios de consulta externa, urgencias, hospitalización y unidades de cuidados intensivos, (Tabla 3-1). Los casos notificados individualmente al INS de ESI – IRAG, IRAG inusitado, incluyendo las muertes en menores de 5 años durante el periodo de observación fueron 109.958, de éstos, 50.762 fueron enviados al Grupo de Virología del INS para estudio de biología molecular. Posterior a la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, se conformó una muestra de 31,563 casos, con 1604 casos fatales, de los cuales 945 cuentan con muestras de tracto respiratorio para estudio de histopatología (Figura 3-1).

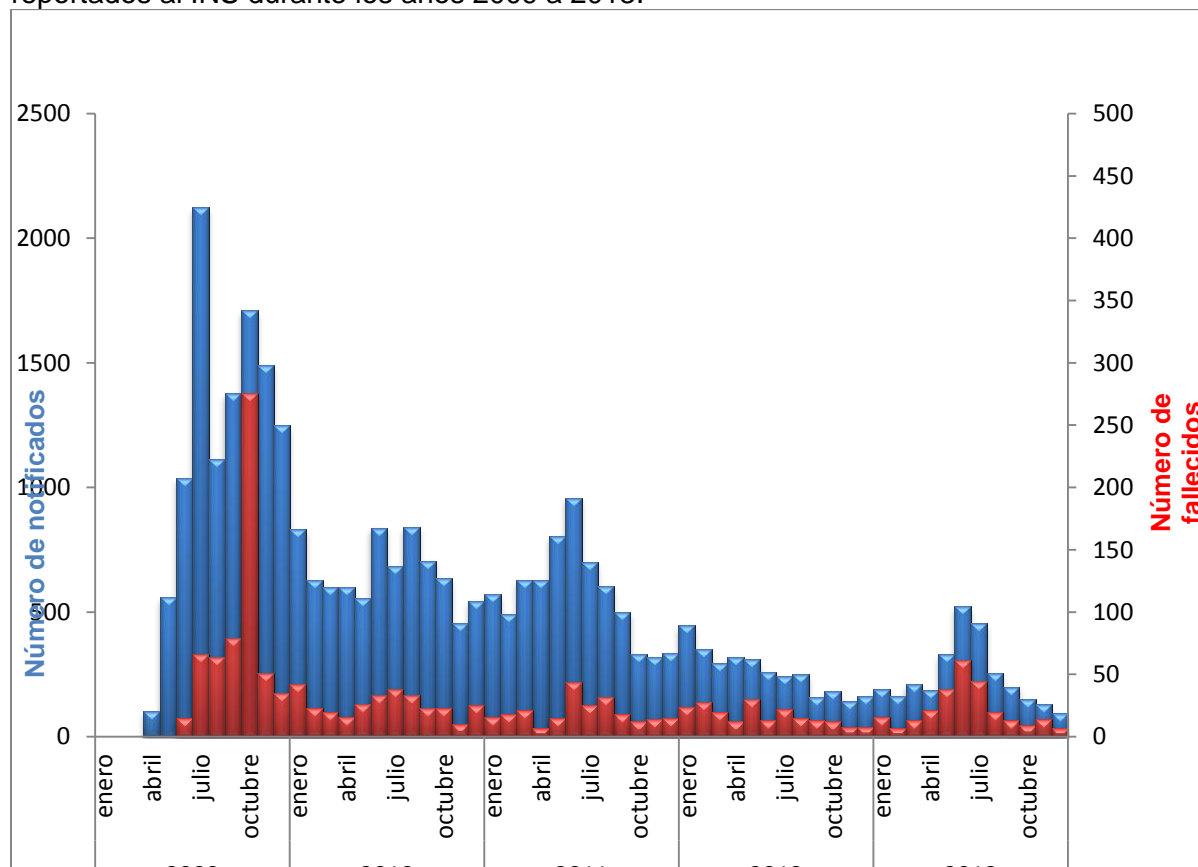
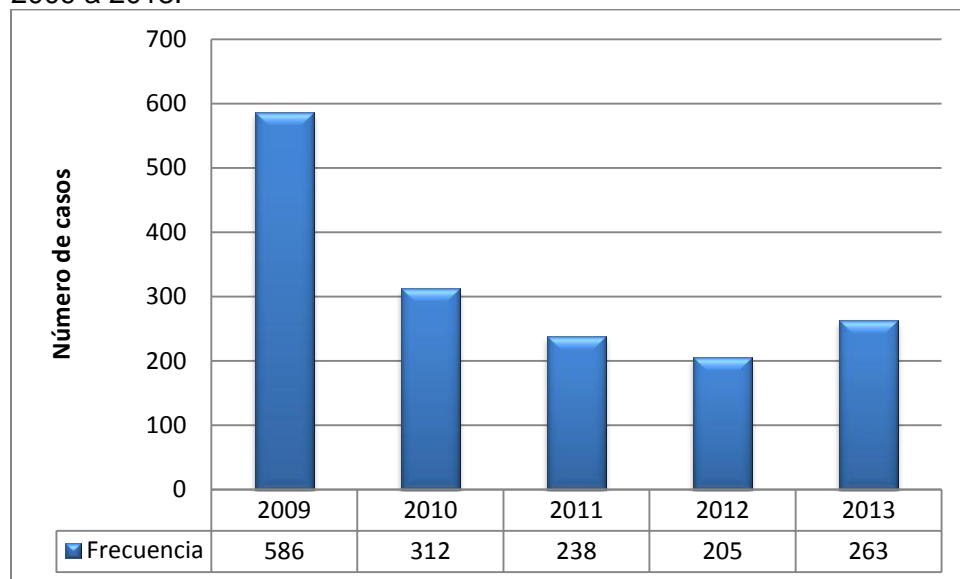
Tabla 3-1: Individuos notificados por IRA al SIVIGILA durante los años 2009 a 2013.

Estrategia	Notificación		Número de casos reportados				
			2009	2010	2011	2012	2013
			Ref. (67)	Ref. (21)	Ref. (22)	Ref.(23)	Ref.(9)
Morbilidad IRA	Colectiva, semanal	Consulta externa y urgencias	-	-	-	5490299	6380860
		Hospitalización	-	-	-	243380	242964
		UCI	-	-	-	12945	15249
		Morbilidad IRA	5168333	5150671	4168832	5746624	6639073
ESI	Individual, semanal		13403	7621	13114	2996	1822
IRAG	Individual, semanal		20306	15666	17076	2553	6314
IRAG inusitado	Individual, inmediata		-	-	-	1470	2327
Mortalidad en menores de 5 años	Individual, inmediata		350	345	530	453	612

Figura 3-1: Casos fatales con estudio de biología molecular e histopatología en el INS durante los años 2009 a 2013.



Durante los años 2009 a 2013 la distribución de las notificaciones, incluyendo los casos fatales se especifica en las Figuras 3-2 y 3-3, el mayor número de casos se presentó en el año 2009, principalmente en los meses de septiembre y octubre de ese año y otro pico documentado a mitad de año de 2013; la letalidad de la enfermedad permanece constante, con mayor ocurrencia de fallecimientos durante los periodos epidémicos.

Figura 3-2: Número de casos notificados y casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado reportados al INS durante los años 2009 a 2013.**Figura 3-3:** Número de casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado durante los años 2009 a 2013.

Se determinó la tasa de mortalidad por 100.000 habitantes, teniendo en cuenta el número casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado reportados al INS durante los años 2009 a 2013 y la población calculada para cada año para Colombia, la mayor tasa de mortalidad se presentó durante el año 2009 (Tabla 3-2).

Tabla 3-2: Tasa de mortalidad de ESI, IRAG e IRAG inusitado durante los años 2009 a 2013.

Año	Tasa de mortalidad por 100.000 habitantes
2009	1,3/100,000
2010	0,7/100,000
2011	0,5/100,000
2012	0,4/100,000
2013	0,5/100,000

El lugar de procedencia de los casos se discrimina en la Tabla 3-3 y Figura 3-4, 50% de los casos fatales reportados ocurrieron en Cundinamarca, Valle del Cauca, Meta, Santander, Norte de Santander y Tolima, los fallecimientos reportados guardan relación con la número de habitantes de estas regiones, es decir, las áreas geográficas en donde se presentó el mayor número de casos corresponde a los departamentos con más densidad poblacional (Figura 3-5); la mayor letalidad de ESI, IRAG e IRAG inusitado se presentó en Amazonas, Vichada, Córdoba, La Guajira, Cundinamarca, Cesar, San Andrés y Norte de Santander (Figura 3-6). La letalidad también se ve relacionada con el índice de competitividad departamental, siendo mayor la letalidad en los departamentos con índices de competitividad bajos (Figura 3-7).

Tabla 3-3: Procedencia casos notificados y fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado en Colombia durante los años 2009 a 2013.

Departamento	Notificados	Fallecidos	Letalidad (%)
Amazonas	114	33	28,0%
Vichada	18	3	16,7%
Córdoba	339	52	15,3%
La Guajira	146	19	13,0%
Cundinamarca	2089	262	12,5%
Cesar	509	63	12,4%
San Andrés	49	6	12,2%
Norte de Santander	688	83	12,1%
Caquetá	141	15	10,6%
Vaupés	57	6	10,5%
Casanare	220	21	9,5%
Cauca	540	51	9,4%
Quindío	307	28	9,1%
Magdalena	354	32	9,0%
Putumayo	194	14	7,2%
Valle del Cauca	1906	137	7,2%
Huila	756	53	7,0%
Risaralda	712	47	6,6%
Guanía	46	3	6,5%
Nariño	821	49	6,0%
Santander	2427	118	4,9%
Meta	3050	125	4,1%
Bolívar	598	24	4,0%
Antioquia	1308	47	3,6%
Atlántico	1136	41	3,6%
Boyacá	1037	37	3,6%
Tolima	2224	79	3,6%
Choco	34	1	2,9%
Caldas	3449	73	2,1%
Guaviare	1423	25	1,7%
Sucre	1842	23	1,6%
Arauca	3029	34	1,1%
Total	31563	1604	5,1%

Figura 3-4: Número de casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado reportados por departamentos durante los años 2009 a 2013.

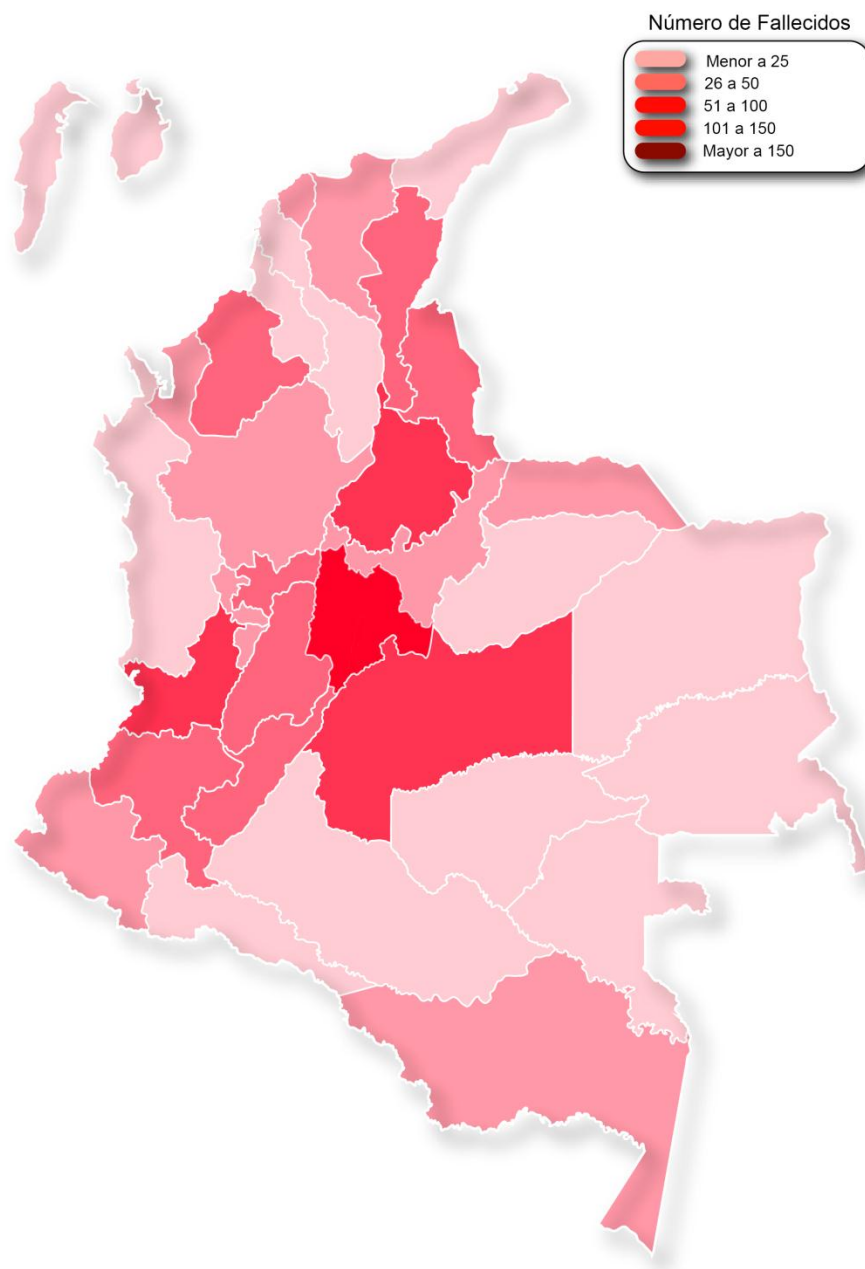


Figura 3-5: Número de casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado por departamentos y población.

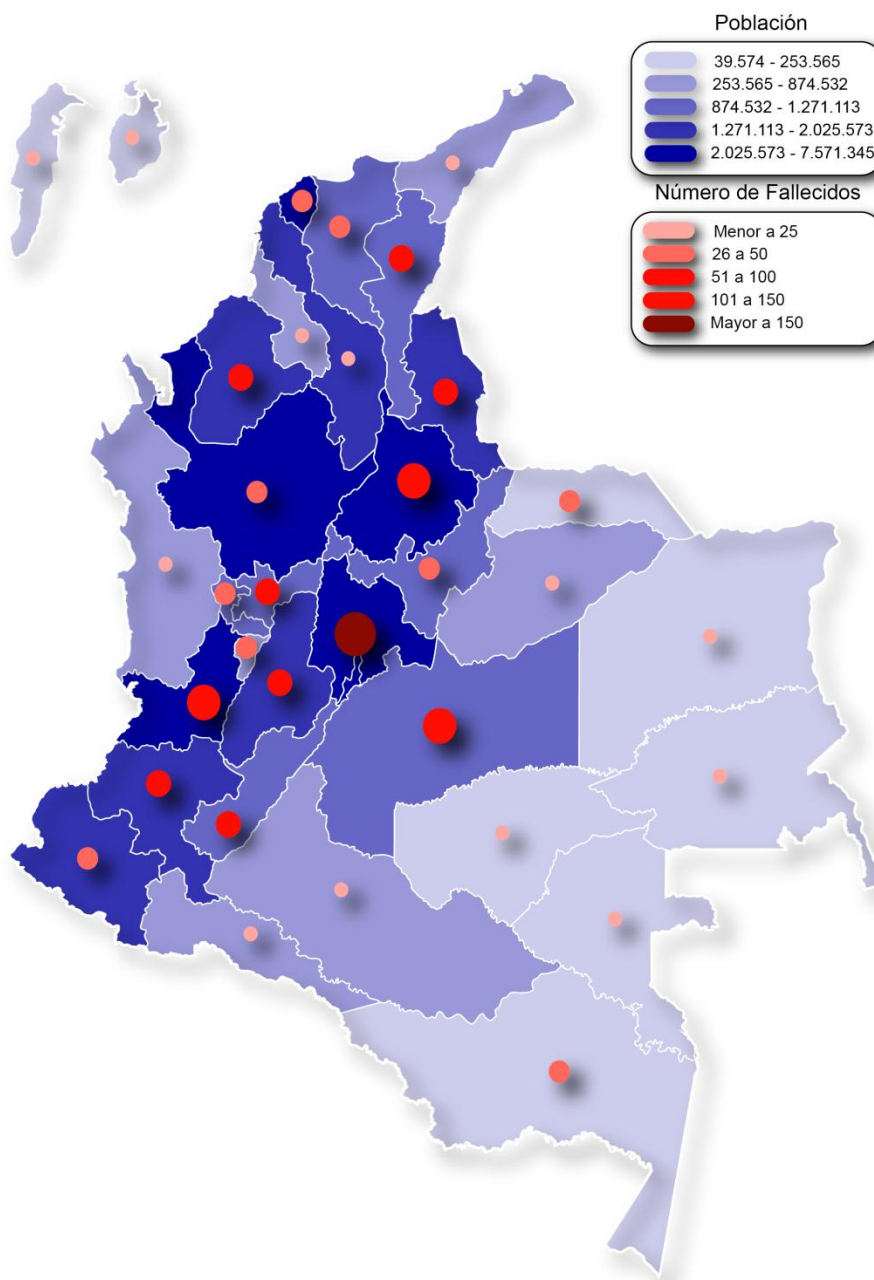


Figura 3-6: Letalidad de ESI, IRAG e IRAG inusitado durante los años 2009 a 2013.

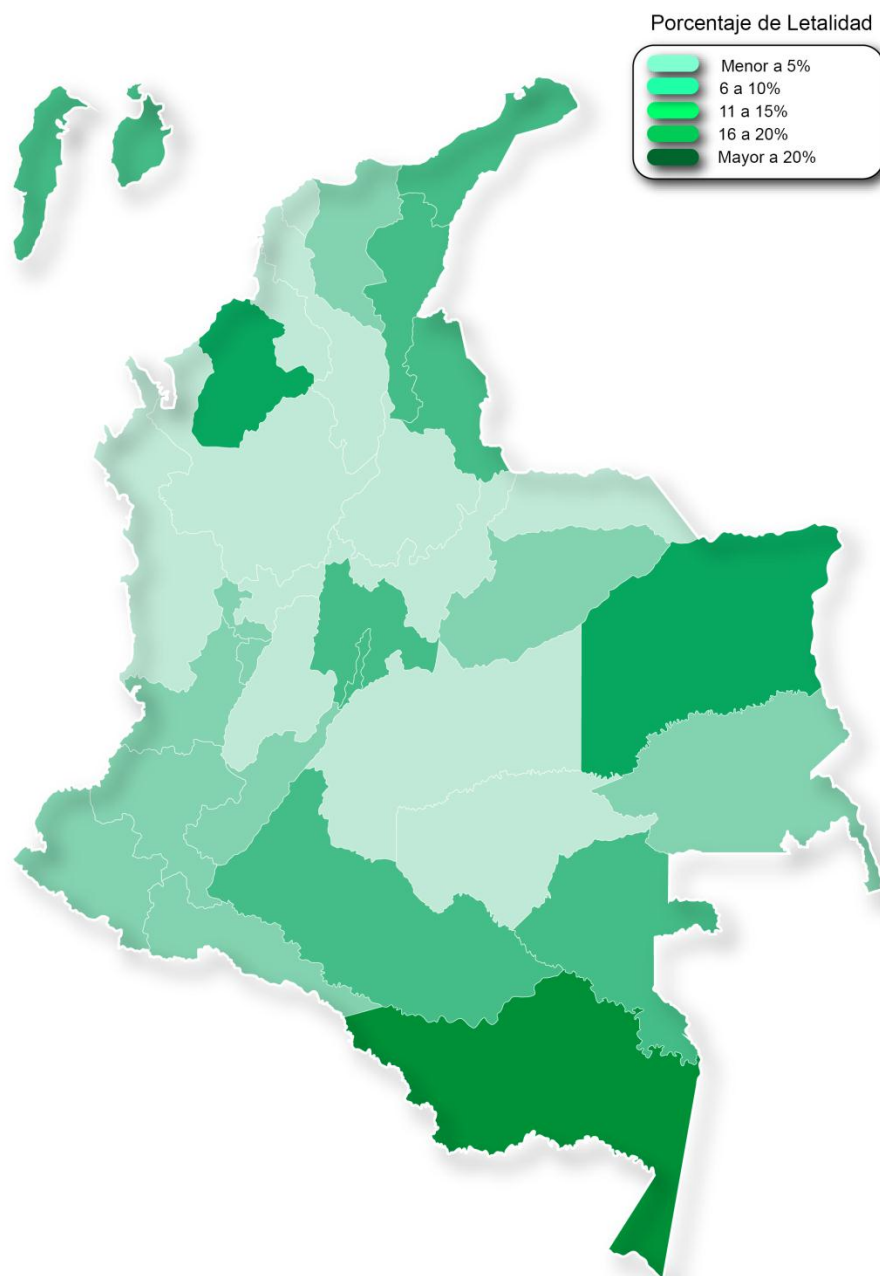
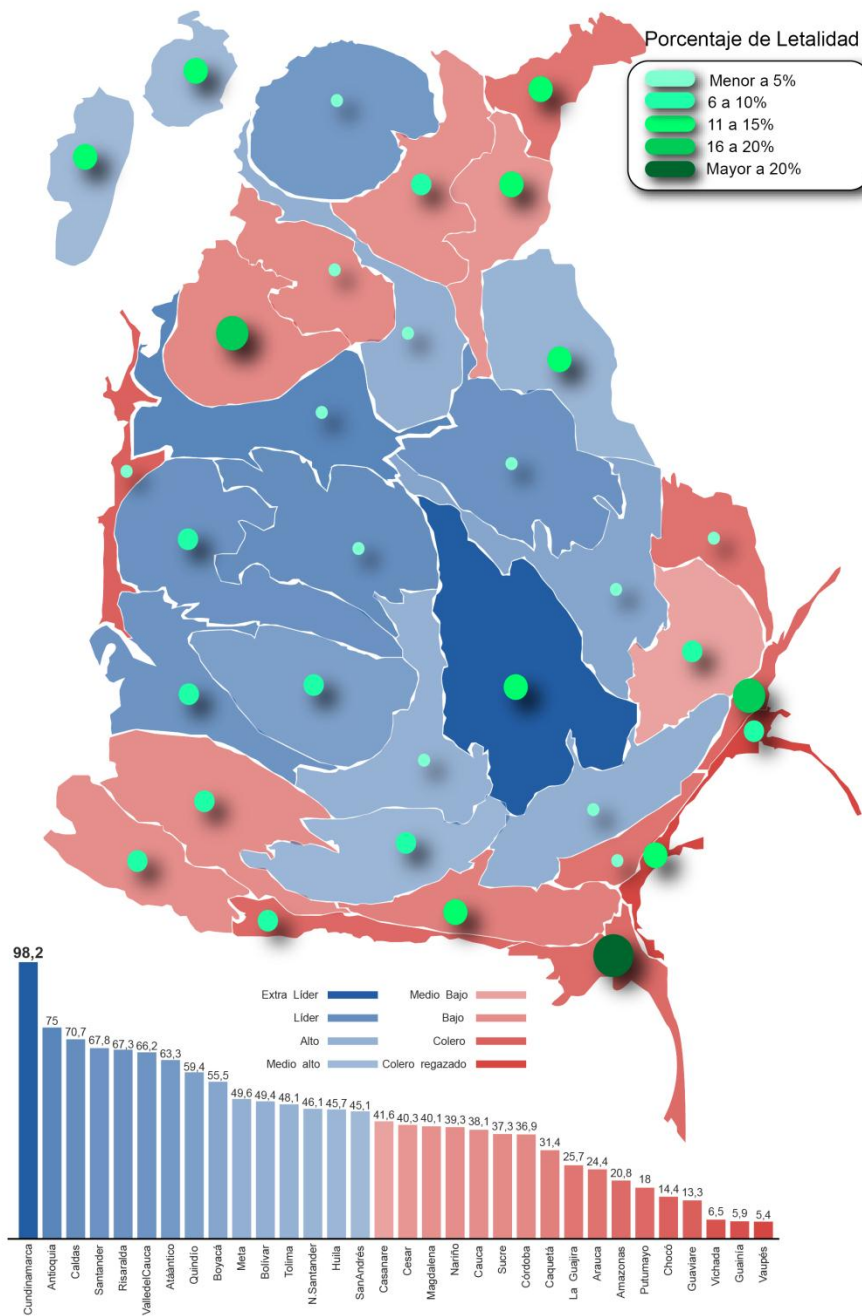


Figura 3-7: Letalidad de ESI, IRAG e IRAG inusitado según el índice de competitividad departamental.

Tomado del artículo "La carrera de las regiones" publicado en la revista Semana, Edición 1745 del 11 al 18 de octubre del 2015

La edad de los individuos fallecidos estaba comprendida entre 29 días y 101 años, con una distribución asimétrica de los datos, la mediana fue de 30 años, y el promedio de 31 años, que no se afectó por las edades extremas, los percentiles 25, 50 y 75% correspondían a 6, 30 y 50 años, respectivamente; los individuos entre 20 y 59 años fueron el grupo más afectado, representando 46% de todos los casos fatales, seguidos de los niños de 1 año y menores (Figura 3-8). La distribución del sexo fue 55% para hombres y 45% para mujeres. Las personas entre 40 y 59 años constituyeron la mayoría de los pacientes hospitalizados y que fallecieron (Tabla 3-4),

Figura 3-8: Casos fatales reportados de ESI, IRAG e IRAG inusitado al INS durante los años 2009 a 2013 según el grupo etario.

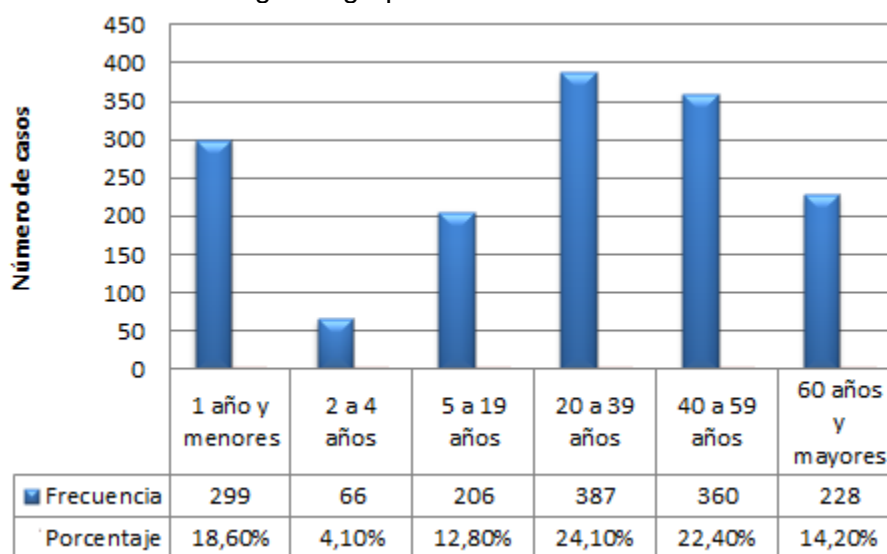


Tabla 3-4: Casos fatales de ESI, IRAG e IRAG inusitado que fueron hospitalizados según el grupo etario.

Grupo etario	Frecuencia	Porcentaje (n=868)
1 año y menores	195	22,5%
2 a 4 años	40	4,6%
5 a 19 años	98	11,3%
20 a 39 años	176	20,3%
40 a 59 años	205	23,6%
60 años y mayores	154	17,7%

La información obtenida respecto a la formulación de antibiótico y/o antiviral es limitada, se cuenta con menos de 50% en todos los casos; con la información disponible y teniendo en cuenta la administración de antiviral y antibiótico y el desenlace mortalidad, se aprecia que la letalidad es mucho mayor en los pacientes a quienes no se les administró antiviral (OR: 2.80; IC 95% 2.29 – 3.43), no administración de antibiótico (OR: 3.19; IC 95% 2.63 – 3.86) y no administración de antiviral ni antibiótico (OR: 4.62; IC 95% 3.65 – 5.83) (Tablas 3-5, 3-6 y 3-7).

Tabla 3-5: Administración de antibiótico y/o antiviral en los casos fatales y no fatales

	Fallecidos (n=1604)		Vivos (n=29960)	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Administración de antibiótico	217	13,5%	4022	13,4%
Administración de antiviral	11	0,7%	482	1,6%
Administración de antibiótico y antiviral	140	8,7%	1332	4,4%
No administración de antibiótico o antiviral	178	11,1%	7834	26,2%
No administración de antiviral ni antibiótico y letalidad OR: 4.62 (IC 95% 3.65 - 5.83)				

Tabla 3-6: Administración de antiviral en casos fatales y no fatales.

Administración de antiviral	Fallecidos	Vivos	Total
Si	160	1814	1974
No	318	10115	10433
No administración de antiviral y letalidad OR: 2,80 (IC 95% 2,29 - 3,43)			

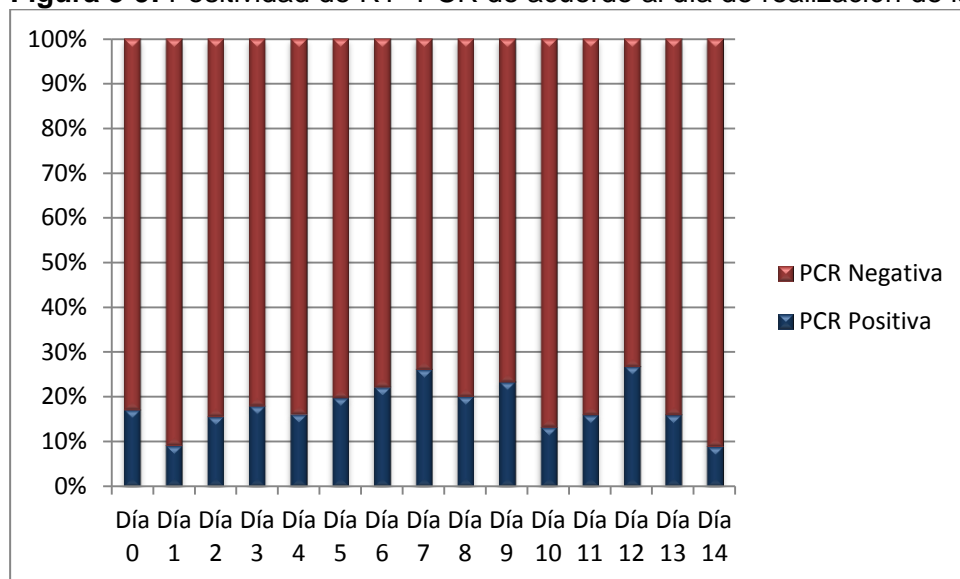
Tabla 3-7: Administración de antibiótico en casos fatales y no fatales.

Administración de antibiótico	Fallecidos	Vivos	Total
Si	357	5354	5711
No	164	7849	8013
No administración de antibiótico y letalidad OR: 3,19 (IC 95% 2,63 - 3,86)			

Las muestras respiratorias para estudio de biología molecular de los casos fatales corresponden en su mayoría a hisopado nasofaríngeo (53,6%) y biopsias de tracto respiratorio (36,2%); el tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y la toma de las muestras fue 7 días, la moda fue 3 días, aunque ésta solo corresponde al percentil 25, el porcentaje de positividad en cada uno de los 14 días después del inicio de los síntomas fue similar, con un leve incremento de pruebas positivas durante el sexto y

noveno día, en el duodécimo día se presentó la mayor positividad (Figura 3-9), 945 casos cuentan con muestras de tracto respiratorio para estudio de histopatología, 76% de las cuales estaban constituidas por tejidos de tráquea/pulmón y tráquea/bronquio/pulmón.

Figura 3-9: Positividad de RT- PCR de acuerdo al día de realización de la prueba.



La positividad de RT-PCR en las diferentes muestras respiratorias (hisopado faríngeo, aspirado nasofaríngeo, lavado bronco-alveolar y biopsias tejidos) fue 18,3%, se documentó un aislamiento viral en 17,6% y dos aislamientos virales en 0,7% (Tabla 3-8), fue más frecuente encontrar pruebas positivas entre los individuos 20 a 59 años y en los pacientes hospitalizados (Tabla 3-9).

Tabla 3-8: Resultado de RT-PCR en muestras respiratorias.

Muestra respiratoria	Número de muestras	Porcentaje	1 aislamiento viral	2 aislamientos virales
Positiva	294	18,3%	17,6%	0,7%
Negativa	1310	81,7%	-	-
Total	1604	100%	-	-

Tabla 3-9: Positividad de RT-PCR en muestras respiratorias según el grupo etario.

Grupo etario	RT-PCR positiva (n=282)	Hospitalizado	Ambulatorio	Sin dato
1 año y menores	29 (10,3%)	72,4%	3,4%	24,1%
2 a 4 años	5 (1,8%)	100%	-	-
5 a 19 años	42 (14,9%)	23,8%	33,3%	42,9%
20 a 39 años	96 (34,0%)	49,0%	6,3%	44,8%
40 a 59 años	89 (31,6%)	65,2%	2,2%	32,6%
60 años y mayores	21 (7,4%)	81,0%	-	19,0%

De los casos con RT-PCR positiva, el virus más frecuentemente aislado fue influenza A(H1N1)pdm09, seguido de influenza A(H3N2) e influenza B (Tabla 3-10), la distribución de los aislamientos virales entre los diferentes grupos etarios se presenta en la Tabla 3-11, donde el virus influenza A(H1N1)pdm09 sigue siendo el más frecuente en todas las edades, explicando más de 80% de los aislamientos virales en los individuos entre 5 y 59 años. En el periodo de observación, solo se identificaron 2 casos fatales con RT-PCR positiva para influenza A(H1N1) estacional durante el año 2009. Teniendo en cuenta que solo para el año 2013 se comenzó hacer RT-PCR múltiple para todos los virus respiratorios, existe un escaso número de aislamientos de virus no influenza en los años 2009 a 2012, motivo por el cual, no se tendrán en cuenta para el análisis y discusión aquellas muestras positivas para virus diferentes a influenza, pues el bajo porcentaje de positividad para estos virus es explicado por la no aplicación de la misma prueba diagnóstica en los 5 años de observación.

Tabla 3-10: Frecuencia de aislamientos virales en muestras respiratorias.

Tipo de aislamiento	Casos (n=1604)	Hospitalizado	Ambulatorio	Sin dato
Sin aislamiento	1310 (81,7%)	54,6%	6,6%	38,9%
Influenza A(H1N1)pmd09	223 (13,9%)	47,5%	9,0%	43,5%
Influenza A(H3N2)	30 (1,9%)	53,3%	6,7%	40,0%
Virus sincitial respiratorio	12 (0,7%)	100%	-	-
Influenza B	8 (0,5%)	87,5%	-	12,5%
Adenovirus	5 (0,3%)	100%	-	-
Metapneumovirus humano	5 (0,3%)	80,0%	-	20,0%
Rinovirus	3 (0,2%)	66,7%	33,3%	-
Parainfluenza tipo 1	2 (0,1%)	100%	-	-
Parainfluenza tipo 2	2 (0,1%)	50,0%	-	50,0%
Bocavirus	2 (0,1%)	100%	-	-
Parainfluenza tipo 3	1 (0,1%)	50,0%	-	50,0%
Parainfluenza tipo 4	1 (0,4%)	100%	-	-

Tabla 3-11: Distribución de los virus influenza por grupos etarios.

Grupo etario con RT-PCR positiva	1 año y menores (n=29)	2 a 4 años (n=5)	5 a 19 años (n=42)	20 a 39 años (n=96)	40 a 59 años (n=89)	60 años y mayores (n= 21)
A(H1N1)pmd09	48,3%	40,%	83,3%	82,3%	80,1%	57,1%
A(H3N2)	6,0%	20,%	9,5%	7,3%	12,4%	14,9%
Influenza B	3,4%	-	-	3,1%	2,2%	9,5%

Los hallazgos de histopatología en las muestras respiratorias se agruparon según la conclusión hecha por el Patólogo (hallazgos sugestivos de neumonía/neumonitis viral, neumonía bacteriana, neumonía mixta, muestra insuficiente o inadecuada para estudio); 945 casos, que corresponden a 59% de todos los individuos fallecidos tenían estudio de histopatología de muestras del tracto respiratorio, de los cuales 23.2% no tenían hallazgos de infección en parénquima pulmonar, de los casos con evidencia de proceso infeccioso, se encontraron hallazgos de neumonitis/neumonía viral (27.8%), neumonía bacteriana (22.8%) y neumonía mixta (13.9%), es importante mencionar que 1% de los casos correspondían a infección por hongos y 0.6% a infección por micobacterias (Tabla 3-12).

Tabla 3-12: Conclusión de estudio de histopatología de muestras respiratorias y resultado de RT-PCR.

Conclusión de estudio de histopatología	Porcentaje (n=945)	RT-PCR	
		positiva	negativa
Sin hallazgos de neumonitis/neumonía viral o neumonía bacteriana	23,2%	3,2%	20,0%
Hallazgos de neumonitis/neumonía viral	27,8%	6,6%	21,3%
Hallazgos de neumonía bacteriana	22,8%	4,3%	18,4%
Hallazgos neumonía mixta	13,9%	3,4%	10,5%
Muestra ausente, insuficiente o inadecuada para valoración	10,9%	3,3%	7,6%
Hallazgos de estructuras micóticas (candida, aspergillus, histoplasma) en parénquima pulmonar	1,0%	-	1,0%
Hallazgos de necrosis caesificante o BAAR en parénquima pulmonar	0,6%	-	0,6%

Dentro de los casos con RT-PCR positiva para virus influenza los hallazgos histopatológicos más frecuentes fueron neumonitis/neumonía viral (31.8%), seguido de neumonía bacteriana (22.2%) y luego neumonía mixta (15.9%), proporción que es muy similar en los casos con RT-PCR negativa (Tabla 3-13). Influenza A(H1N1)pdm09 fue el virus más frecuente de todos los casos, con evidencia en histopatología de proceso infeccioso viral, bacteriano o mixto (Tabla 3-14). Se resalta que en influenza A(H3N2), en orden de frecuencia, se documentó principalmente neumonía bacteriana y no neumonía viral, como en A(H1N1)pmd09 (Tabla 3-15). No se presentaron cambios en los hallazgos histopatológicos con la administración de antiviral (OR: 1.41; IC 95% 0.72 - 2.80) ni con la administración de antibióticos (OR: 1.19; IC 95% 0.60 - 2.33) (Tablas 3-16 y 3-17).

Tabla 3-13: Distribución de los hallazgos histopatológicos según el resultado de la RT-PCR para virus influenza.

Conclusión de estudio de histopatología	Resultado RT-PCR influenza	
	Positiva (n= 176)	Negativa (n= 749)
Sin hallazgos de neumonitis/neumonía viral o neumonía bacteriana	25 (14,2%)	189 (25,2%)
Hallazgos de neumonitis/neumonía viral	56 (31,8%)	201 (26,8%)
Hallazgos de neumonía bacteriana	39 (22,2%)	174 (23,2%)
Hallazgos de neumonía mixta	28 (15,9%)	99 (13,2%)

Tabla 3-14: Distribución de los aislamientos virales según los hallazgos de histopatología.

	Sin hallazgos de neumonitis/neumonía viral o neumonía bacteriana (n=219)	Hallazgos de neumonitis/neumonía viral (n=263)	Hallazgos de neumonía bacteriana (n=215)	Hallazgos de neumonía mixta (n=131)
A(H1N1)pmd09	23 (10,5%)	52 (19,8%)	30 (13,9%)	25 (19,0%)
A(H3N1)	1 (0,5%)	3 (1,1%)	8 (3,7%)	3 (2,3%)
Influenza B	1 (0,5%)	1 (0,4%)	1 (0,5%)	-

Tabla 3-15: Distribución de los hallazgos histopatológicos según el resultado de la RT-PCR para influenza.

	A(H1N1)pmd09 (n=154)	A(H3N1) (n=17)	Influenza B (n=5)
Sin hallazgos de neumonitis/neumonía viral o neumonía bacteriana	23 (14,9%)	1 (5,9%)	1 (20%)
Hallazgos de neumonitis/neumonía viral	52 (33,8%)	3 (17,6%)	1 (20%)
Hallazgos de neumonía bacteriana	30 (19,5%)	8 (47,1%)	1 (20%)
Hallazgos de neumonía mixta	25 (6,2%)	3 (17,6%)	-

Tabla 3-16: Hallazgos histopatológicos según la administración de antiviral.

	Hallazgos de neumonitis/ neumonía viral (n=263)	Hallazgos de neumonía bacteriana (n=215)	Hallazgos de neumonía mixta (n=131)	Total neumonitis/ neumonía (n= 609)
Antiviral	41 (15,6%)	24 (11,2%)	14 (10,7%)	79 (12,9%)
No antiviral	59 (22,4%)	49 (22,8%)	24 (18,3%)	132 (21,7%)
				Administración de antiviral y cambios histopatológicos OR: 1,41 (IC 95% 0,72 - 2,80)

Tabla 3-17: Hallazgos histopatológicos según la administración de antibiótico.

	Hallazgos de neumonitis/ neumonía viral (n=263)	Hallazgos de neumonía bacteriana (n=215)	Hallazgos de neumonía mixta (n=131)	Total neumonitis/ neumonía (n= 609)
Antibiótico	74 (28,1%)	54 (25,1%)	33 (25,2%)	161 (26,4%)
No antibiótico	31 (11,8%)	27 (12,6%)	8 (6,1%)	66 (10,8%)
				Administración de antibiótico y cambios histopatológicos OR: 1,19 (IC 95% 0,60 - 2,33)

Los hallazgos histopatológicos en tráquea y bronquio de los casos con RT-PCR positiva para virus influenza fueron traqueítis en 66.1% y bronquitis en 67.1%, es decir, más de dos tercios de todos los casos tenían compromiso de la vía aérea superior. La presencia de hemorragia alveolar y microtrombos pulmonares fue 35.4% y 5.4% respectivamente (Tabla 3-18).

Tabla 3-18: Hallazgos microscópicos en tráquea, bronquio y pulmón en muestras positivas para virus influenza.

Tejido	Hallazgo microscópico	n (porcentaje)
Tráquea (n=139)	Infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario	14 (10,1%)
	Infiltrado inflamatorio polimorfonuclear	1 (0,7%)
	Infiltrado inflamatorio mixto	3 (2,2%)
	Infiltrado inflamatorio no especificado	75 (53,1%)
	Necrosis	21 (15%)
Bronquio (n=65)	Infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario	6 (9,2%)
	Infiltrado inflamatorio polimorfonuclear	-
	Infiltrado inflamatorio mixto	3 (4,6%)
	Infiltrado inflamatorio no especificado	35 (53,8%)
	Necrosis	12 (18,5%)
Pulmón (n=147)	Neumonitis	78 (53,1%)
	Neumonía	66 (44,9%)
	Hemorragia	52 (35,4%)
	Trombosis	8 (5,4%)
	Necrosis	2 (1,4%)

De todos los casos fatales solo se tiene registro de vacunación contra influenza en 12.4% (1.1% con antecedente de vacunación y 11.3% no vacunados), la mitad de los vacunados eran mayores de 60 años y la otra mitad menores de 19 años. Dentro de estos 17 casos, 14 tenían RT-PCR negativa, y un caso positivo para cada uno de los siguientes virus: influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) y parainfluenza 1. Siete casos con antecedente vacunal tenían muestras para estudio de histopatología, las conclusiones de las histopatologías fueron: dos casos en que no se encontraron hallazgos de proceso infeccioso en las muestras respiratorias y también tenían RT-PCR negativa, dos casos neumonía bacteriana y dos casos de neumonía mixta (uno de los cuales fue positivo para A(H3N2)).

La información disponible respecto a los síntomas y signos es insuficiente para lograr hacer una aproximación de las características clínicas de los individuos que fallecieron con diagnóstico de ESI, IRAG, IRAG inusitado, solo en dos variables se tienen más de 50% de los datos: fiebre (55.4%) y tos (55.7%), que se presentaron en más de 90% de

los casos; en las demás variables (rinorrea, coriza, conjuntivitis, cefalea, dificultad respiratoria, estridor, taquipnea, tirajes, desaturación, mialgias, convulsiones, postración/malestar general, odinofagia, disfagia y dolor abdominal) los datos registrados oscilan entre 9.9 a 43.2%.

4. Discusión

El perfil epidemiológico de la letalidad de influenza tiende a cambiar posterior a la pandemia de 2009 (43), los casos fatales de esta patología infecciosa se centraban principalmente en los adultos mayores de 65 años (68, 69); sin embargo, durante el año 2009 y los años siguientes se aprecia mayor letalidad en los individuos más jóvenes (70-72). En nuestro estudio la población principalmente afectada fue la conformada por los individuos entre 20 y 59 años, constituyendo 46.5% de todos los fallecidos, hallazgos que se relacionan con las observaciones hechas en países con similar desarrollo económico no usual (73, 74) y en diferentes áreas geográficas durante el mismo periodo de tiempo (72, 75). La letalidad en los individuos entre 20 y 64 años puede ser tan alta, que puede alcanzar hasta 70% de todos los casos fatales, y no solo para el año 2009, también, incluyendo el periodo post pandemia (76). La explicación de la menor afectación en los adultos mayores podría estar relacionada con la presencia de anticuerpos por infecciones previas por virus influenza (77, 78) y la protección ofrecida por la vacunación, prioritaria en este grupo etario (79). En el año 2009 se demuestra en nuestro estudio una mortalidad de 1.3 por 100.000 habitantes, similar a la documentada en países del mismo continente, como Argentina (1.1/100.000), Chile (0.8/100.000) y Uruguay (1/100.000) (80), e igual que países europeos como España (0.9/100.000 habitantes) (81), y siendo menor con respecto a países como Estados Unidos y México, donde la mortalidad fue 4.1 y 11.1 por 100.000 habitantes respectivamente (72, 82). La proporción de hombres y mujeres fue similar entre los casos fatales, hallazgo que fue generalizado durante la pandemia en el año 2009 en todas las regiones (73, 74, 83), aunque la tendencia actual es una mayor mortalidad en los hombres (84).

La mayoría de los casos fatales son procedentes de los departamentos más poblados del territorio nacional, Cundinamarca es el departamento que más aportó casos durante los 5 años de observación; aunque, la letalidad fue mayor en los departamentos del

oriente y sur del país, siendo esta lista encabezada por Amazonas, seguido de Vichada, Córdoba y La Guajira, que se podría relacionar con las dificultades para el acceso y calidad de los servicios de salud. Cundinamarca ocupa el quinto puesto en los porcentajes más altos de letalidad, aunque se debe mencionar, que en el momento de aplicar los criterios de exclusión, los casos notificados (vivos y muertos) por cada departamento disminuyeron de una manera similar, no así, para Cundinamarca, dónde más de 50% del número total de notificados fueron excluidos, pero conservando casi el mismo número de fallecidos, por lo que el porcentaje de letalidad aumentó para este departamento. Se contrastó la mortalidad de cada departamento con el Índice de Competitividad Departamental (ICD), desarrollado por la Comisión Económica para América Latina y el Caribe, donde se diseñó un escalafón de competitividad regional para el año 2015, evaluando el capital humano, ciencia, tecnología e innovación, infraestructura, instituciones, gestión y finanzas; el puntaje máximo corresponde a 100 y es el ideal de competitividad, siendo Cundinamarca con 98.2 puntos el departamento extra líder, seguido de Antioquía, Caldas, Santander, Risaralda y Valle del Cauca y al final de la lista Vichada, Guainía y Vaupés (85); de acuerdo con el ICD, las mayores tasas de letalidad se distribuyen entre los departamentos con menor índice de competitividad. La mayor morbilidad y letalidad en las regiones con crecimiento económico no usual es explicada por la mayor prevalencia de comorbilidades como desnutrición, enfermedades cardiovasculares sin tratamiento, diagnóstico tardío, baja cobertura de programas de vacunación para influenza, obstáculos para la administración temprana de antivirales, ya sea por no disponibilidad del medicamento o alto costo y recursos limitados para ofrecer modalidades de tratamiento invasivo, como ventilación mecánica, soporte y monitoreo hemodinámico (86).

El porcentaje de hospitalización fue igual entre los individuos vivos (53.5%) y fallecidos (54.9%), teniendo en cuenta que la mayor gravedad corresponde a los individuos que fallecieron, es esperable que todos los casos fatales fueran atendidos intrahospitalariamente (74); 40% de los casos fatales no tenían registrado si fueron o no hospitalizados, por lo que a partir de nuestra observación no se pueden establecer diferencias en cuanto a modalidad de atención de los individuos (ambulatorio vs hospitalario). Llamativamente 6.8% (109 casos) fueron atendidos ambulatoriamente, de

los cuales, 15 no tienen la información de la unidad primaria generadora de dato, 13 fueron notificados desde los institutos regionales de Medicina Legal y 11 desde los Laboratorios Departamentales de Salud Pública, entidades que no ofrecen servicios de atención médica, lo que podría explicar que hayan sido pacientes ambulatorios; sin embargo, 70 casos (64%) si fueron reportados desde clínicas y hospitales, por lo que estos individuos antes de su fallecimiento tendrían que haber estado en dichas instituciones, exceptuando solo los casos con datos ajustados en su condición final, es decir, individuos que fueron atendidos inicialmente de manera ambulatoria y posteriormente fallecieron; no obstante, toda la información con respecto a la atención ambulatoria de los casos fatales debe ser confirmada. De todos los casos hospitalizados, 25% correspondía a los individuos entre 20 y 59 años, esperable por ser la población que más casos aportó a nuestra cohorte, y que, se relaciona con los nuevos perfiles epidemiológicos de infección por virus influenza, donde los principalmente afectados son los individuos económicamente activos (72, 87, 88), incluso los individuos entre 17 y 64 años pueden llegar a ser 61% de todos los pacientes hospitalizados, generando una mayor carga de la enfermedad, debido a los días laborales perdidos (89), que pueden ser hasta 5 días por cada episodio de influenza (90).

La administración de oseltamivir o antibióticos fue 22.9% en los casos fatales y 19.4% en los casos no fatales, aunque solo se cuenta con la información en menos de la mitad de todos los casos, motivo por el cual, no se puede generalizar que la formulación de antiviral y antibióticos fue baja en todos los casos. La información que aportan los estudios respecto a la administración de antivirales o antibióticos en IRA en Colombia es variable, en el trabajo de Arango AE y colaboradores (Medellín 2007-2012), donde se quería describir los agentes virales implicados en la infección respiratoria aguda, 23.3% de los individuos recibieron antibiótico, 0.4% antiviral, 0.3% antiviral y antibiótico y 71.1% no recibió ninguna terapia antibiótica o antiviral antes de ser incluidos en el estudio (91), datos comparables con nuestros resultados; sin embargo, en este estudio 93.9% de los pacientes eran menores de 14 años y en el nuestro la mayor población estaba entre 20 y 59 años; en el trabajo de Remolina YA y colaboradores (Bogotá 2012), la administración de oseltamivir fue 72.5% y antibiótico 90.1% (92), porcentajes mucho mayores al compararlos con nuestros resultados, aunque se debe mencionar, que en este último estudio (92), la fuente de la información fue la historia clínica y se excluyeron

los pacientes con datos clínicos incompletos, por lo que se tenía la información de todos los individuos incluidos, a diferencia de nuestro trabajo, donde el origen de la información fue la ficha epidemiológica y el único criterio de exclusión fue tener mas de 14 días de evolución de los síntomas, lo que podría explicar la alta frecuencia de datos faltantes. Con la información obtenida se evidencia que la no administración de antiviral aumenta la letalidad hasta casi tres veces (OR: 2.80 IC 95% 2.29 - 3.43); estos hallazgos ya se han evidenciado en otras publicaciones, donde consistentemente se aprecia la disminución de la letalidad con el uso del oseltamivir (93, 94), incluso iniciado después de 48 horas de aparición de los síntomas (95, 96). Inicialmente el efecto benéfico del oseltamivir, se centraba solo en la disminución de los síntomas, siempre y cuando se iniciara lo más pronto posible (34, 97, 98); sin embargo, Jonathan Hsu y colaboradores con su meta-análisis de estudios observacionales demostró una disminución de la letalidad con el uso de antiviral en 77% (OR: 0.23; IC 95% 0.13 - 0.43) (93) y Muthuri SG y colaboradores, en sus dos meta-análisis, el primero basado en estudios descriptivos y ensayos clínicos de pacientes hospitalizados (94) y el segundo más reciente, con datos de pacientes individuales (95), demostró que la administración de inhibidores de neuroaminidasa disminuye la letalidad entre 20 y 30% (OR 0.81; IC 95% 0.7 - 0.81(95), OR: 0.72; IC 95% 0.51 - 1.01 (94)) y hasta 50 a 60% si el antiviral se administra dentro de las 48 horas de iniciados los síntomas (OR: 0.48; IC 95% 0.41 - 0.56 (95), OR: 0.38; IC 95% 0.27 - 0.53 (94)). En nuestra observación la administración de antiviral y antibiótico no modificó los cambios encontrados en la histopatología (hallazgos de neumonía viral, bacteriana o mixta), con oseltamivir OR 1.41; IC 95% 0.72 - 2.80 y con antibiótico OR: 1.19; IC 95% 0.60 - 2.33; aunque la evidencia científica muestra que los pacientes que reciben oseltamivir tienen menor riesgo de presentar neumonía, como lo encontrado en el meta-análisis de Muthuri SG y colaboradores, donde los individuos sin antiviral tenían dos veces más riesgo de neumonía (OR: 2.29; IC 95% 1.16 - 4.53), y administrándose el antiviral tempranamente la reducción del riesgo de neumonía fue 65% (OR: 0.35; IC 95% 0.24 - 0.49) (94).

18.3% de todos los casos fatales tenían aislamiento viral por RT-PCR, la positividad para virus diferentes a influenza fue muy baja, debido a que solo para el año 2013 se realizó RT-PCR múltiple para 17 virus respiratorios, motivo por el cual, solo se analizaron los

casos con aislamiento de virus influenza, que corresponden a 16.3% (13.9% influenza A(H1N1)pdm09, 1.9% influenza A(H3N2) Y 0.5% influenza B), solo se presentaron dos casos fatales por influenza A(H1N1) estacional en el año 2009. El porcentaje de muestras positivas en los estudios de vigilancia epidemiológica es variable (99), desde 7.7% (Nigeria 2009-2010 (100)) hasta 41.9% (Portugal 2009-2011 (101)). El porcentaje de muestras positivas para virus influenza en nuestra cohorte es similar a países de todos los continentes durante el mismo periodo de observación (99, 102-105). Nuestros resultados se relacionan con dos estudios descriptivos que también incluyeron los mismos 5 años de observación (2009 a 2013), realizados en India (88) y Niger (106), donde influenza A(H1N1)pdm09 es el más frecuente de todos los virus influenza, seguido de A(H3N2) e influenza B. El porcentaje de positividad es similar al estudio hecho en India (influenza A(H1N1)pdm09 12,7%, A(H3N2) 4%, influenza B 4.3%(88)) y mayor que el del país africano (influenza A(H1N1)pdm09 4.9%, A(H3N2) 3%, influenza B 1.5% (106)). Teniendo en cuenta solo la positividad de la RT-PCR para virus influenza, nuestros resultados se relacionan con estudios locales, Arango AE y colaboradores, en el Hospital Pablo Tobón Uribe en la ciudad de Medellín durante los años 2007 a 2012, detectaron virus influenza en 20.8% de los casos, aunque con la ventaja de emplear cultivo viral, además de RT-PCR (91); por otro lado, nuestra positividad es baja comparada con lo descrito por Remolina YA y colaboradores, en casos de IRAG atendidos en 7 hospitales de tercer nivel en la ciudad de Bogotá durante el año 2012, donde documentaron infección viral en 69.2%, siendo influenza el virus más aislado (30.8%), de los cuales influenza A correspondía a 75% (92), aunque el diagnóstico molecular para este estudio se hizo mediante la técnica de micromatrices para detección de genoma viral, que puede llegar a tener una mayor sensibilidad que la RT-PCR (107).

En nuestra observación influenza A(H1N1)pdm09 fue el virus más frecuente en todas las edades, hallazgo que se relaciona con lo reportado en la literatura para el mismo periodo de tiempo (102), estudios en países europeos durante los años 2012 a 2013 describen que A(H1N1)pdm09 correspondía a más de 68% de los aislamientos de influenza A, excepto en los niños de 5 a 14 años donde fue mayor influenza B y en los mayores de 60 años en quienes predominó A(H3N2) (108). La mayor positividad para virus influenza A en las muestras respiratorias en nuestro estudio se centró en los individuos entre los 20 y 59 años, hallazgos acordes a lo reportado en la literatura (105, 109), incluyendo

pacientes atendidos ambulatoriamente (Shangai 2011- 2013), donde influenza A correspondía a 42% de todos los aislamientos en los individuos entre 15 y 59 años (105). Cuando se tienen en cuenta todos los virus respiratorios, se debe anotar que en los niños menores de dos años tienen mayor protagonismo los virus diferentes a influenza como virus sincitial respiratorio, rinovirus y adenovirus (59, 104, 109, 110) a diferencia de los adultos, donde sigue siendo más frecuente los virus influenza (58, 59, 109).

La mayor sensibilidad de RT-PCR se encuentra entre el segundo y tercer día de los síntomas (111), conservando una relación inversamente proporcional con los días de evolución de la enfermedad (112, 113), manteniéndose positiva hasta el octavo día (114, 115), hallazgo no documentado en nuestro estudio, pues la mayor positividad se encontró entre el sexto y noveno día de enfermedad, aunque existe la plausibilidad biológica para tener RT-PCR positiva después del octavo día de enfermedad, pues la excreción viral puede llegar a 10 días en los pacientes hospitalizados y hasta 18 días en los pacientes internados en la unidad de cuidados intensivos (116), tiempo que se acorta si se administra antiviral tempranamente (116, 117).

De los casos con RT-PCR positiva para virus influenza con estudio de histopatología se documentaron alteraciones sugestivas de proceso infeccioso en 69.8%, siendo la neumonitis/neumonía viral el hallazgo más frecuente en 31.8% de los casos, seguido de neumonía bacteriana (22.2%) y neumonía mixta (15.9%); el compromiso en parénquima pulmonar por neumonitis documentado en nuestro estudio es bajo, teniendo en cuenta que hasta en 100% de los casos fatales por influenza confirmados por laboratorio se presenta algún hallazgo del espectro de daño alveolar (118), como edema (63-86%), membranas hialinas (59%), y descamación de neumocitos tipo II (30-46%), además del infiltrado inflamatorio linfocitario (48-100%) (118-121); la hemorragia alveolar se presentó en 35.4% de los casos, siendo la única característica que se relaciona con los descritos en las series de autopsias donde este hallazgo se encuentra entre 24 y 85%; en nuestra observación sólo en 5.4% de los casos se identificaron microtrombos, promedio mucho menor al 20 y 28% reportado (118-121). En 14,2% de los casos no se evidenció alteración del parénquima pulmonar, sin embargo, está descrita la mortalidad de influenza por causas extra-pulmonares, específicamente por enfermedad cardiovascular (122), de hecho, dentro de las causas de muerte de individuos por influenza confirmada por laboratorio, según el diagnóstico de egreso, solo 53% fallecieron por causas

respiratorias, 10% fue por enfermedad cardiovascular y 37% por otras causas (123). La presencia de coinfección bacteriana encontrada en nuestra serie fue 48%, que se relaciona con los hallazgos en autopsias de casos de influenza, donde además de la infección viral, 41 a 56% de los casos tenían evidencia de neumonía bacteriana (120, 124). En nuestro estudio los casos con RT-PCR positiva para virus influenza tenían traqueítis en 66.1% y bronquitis en 67.5%, acorde con lo descrito en los reportes de autopsia, donde se documenta traqueítis o bronquitis entre 66% y 100% de los casos letales de influenza (118, 120, 121); la presencia de necrosis en tráquea y bronquio fue de 16,2% en nuestro estudio, menor que lo reportado en la literatura donde puede llegar a ser de 26% (118).

La positividad de RT-PCR en los casos con evidencia de proceso infeccioso en parénquima pulmonar fue 20,2% (123/609), tomando solo los casos con hallazgos de neumonitis y neumonía viral es 21.3%, porcentaje de positividad bajo si se compara con otros estudios de biología molecular en tejido del tracto respiratorio (125); en revisiones de autopsia de individuos con influenza A(H1N1)pdm09 confirmada por laboratorio, la RT-PCR de tejidos es positiva en 53% si la duración de la enfermedad es menor a 10 días y disminuye a 39% si la duración de la enfermedad es mayor a 10 días (118), haciendo el análisis con los mismos días de evolución de la enfermedad, en nuestra serie la positividad de la RT-PCR en los casos con menos de 10 días de síntomas es 18.5% y si la evolución es mayor a 10 días 14.2%; igualmente muy baja con respecto a lo reportado en la literatura (118, 125).

No se presentaron coinfecciones de tuberculosis o infección micótica con influenza, en nuestro trabajo 1% y 0.6% de los estudios histopatológicos representaban infección por hongos (*candida*, *aspergillus* e *histoplasma*) y tuberculosis, respectivamente, todos los casos con muestras de RT-PCR para virus influenza fueron negativas. La presencia de influenza en pacientes con tuberculosis pulmonar activa ya se ha descrito previamente, en países donde la tuberculosis es endémica, hasta 10% de los casos de influenza pueden cursar también con tuberculosis pulmonar (126). La concurrencia de influenza en pacientes con diagnóstico nuevo de tuberculosis es muy baja, siendo alrededor de 0.06% (127); no obstante, es importante tenerla en cuenta en pacientes procedentes de áreas de alta endemecidad para tuberculosis con diagnóstico de influenza, y cuya evolución sea tórpida, a pesar del tratamiento adecuado (128). La coinfección influenza

e infección micótica pulmonar es muy infrecuente y se presenta exclusivamente en pacientes inmunosuprimidos (129).

Los resultados obtenidos en nuestra investigación, son sumamente importantes, pues se constituyen en el primer acercamiento a los casos fatales de IRA en Colombia durante 5 años de observación y permiten adoptar medidas a nivel nacional para el tratamiento de IRA, como la directriz de administrar oseltamivir a todos los pacientes de IRAG e IRAG inusitado en todos los grupos etarios, además de fortalecer los servicios de salud en los departamentos con desarrollo económico no convencional donde la letalidad de la enfermedad es mayor. Se deben hacer nuevos estudios observacionales prospectivos, incluso retrospectivos pero con la información suficiente, con el fin de reforzar las conclusiones de nuestro estudio.

La alta frecuencia de datos faltantes fue la principal debilidad de nuestro estudio, limitando el análisis de todas las variables incluidas, no se logró realizar una aproximación clínica de los pacientes, la ausencia del antecedente de vacunación no permitió evaluar el impacto de la vacunación con la mortalidad por influenza, en la mitad de los casos no se contaba con la información respecto a la administración de antibiótico y antiviral, solo se tuvieron en cuenta los aislamientos de virus influenza, pues solo hasta el año 2013 se hizo RT-PCR múltiple para 17 virus respiratorios en todas las muestras respiratorias, motivo por el cual la positividad para virus diferentes a influenza fue muy baja.

5. Conclusiones

La letalidad de ESI, IRAG, IRAG inusitado es mayor en los departamentos de desarrollo no usual y menor índice de competitividad, donde el acceso y calidad de los servicios de salud son deficientes.

El principal agente responsable de los casos fatales de infección respiratoria aguda confirmadas por laboratorio durante los años 2009 a 2013 fue el virus influenza A, subtipo A(H1N1)pdm09.

La frecuencia de RT-PCR positivas en los casos con evidencia histopatológica de neumonitis y neumonía viral es baja.

La mayor mortalidad por ESI, IRAG e IRAG inusitado en nuestra cohorte se presentó en los individuos entre 20 y 59 años, generando un mayor impacto por tratarse de la población económicamente activa.

La administración de oseltamivir y/o antibiótico podrían disminuir la letalidad en IRA.

65% de todos los casos fatales tenían evidencia de proceso infeccioso viral o bacteriano en tejido pulmonar y en la mitad de estos casos se documentó proceso infeccioso bacteriano; teniendo en cuenta la alta frecuencia de la coinfección bacteriana, se sustenta la administración de antibioticoterapia en los pacientes con IRAG e IRAG inusitado, además argumentado en la posible disminución de la mortalidad observada con la administración de antibiótico.

Dos terceras partes de los casos fatales con RT-PCR positiva tenían compromiso de la vía aérea superior.

1 y 0.6% de los individuos notificados tenían infección fúngica pulmonar y tuberculosis respectivamente.

6. Recomendaciones

Socializar las guías de manejo para atención de pacientes con infección por virus influenza disponibles: Protocolo de atención y manejo de casos de infección por virus pandémico AH1N1/09 y sus contactos (130) y la Guía integral de estudio y manejo de casos y sus contactos para enfermedad similar a Influenza, incluido el diagnóstico y el manejo clínico, profiláctico y terapéutico (131) y protocolos de vigilancia en Salud Pública en todo el territorio nacional.

Teniendo en cuenta la mayor letalidad de la ESI, IRAG e IRAG inusitado en los departamentos de desarrollo no usual, se deben destinar más recursos y encaminar los esfuerzos para mejorar la promoción, prevención y los procesos de atención de los pacientes con infección respiratoria aguda en estas regiones de Colombia.

Debido a la disminución de la mortalidad con la administración de antivirales y antibióticos, es obligatoria la prescripción de oseltamivir y antibióticos a todos los pacientes con infección respiratoria aguda grave e inusitada.

Se debe insistir en el adecuado diligenciamiento de las fichas epidemiológicas por parte de los médicos, ya que son frecuentes los datos faltantes en estas fichas.

7. Bibliografía

1. Garg S, Jain S, Dawood FS, Jhung M, Perez A, D'Mello T, et al. Pneumonia among adults hospitalized with laboratory-confirmed seasonal influenza virus infection-United States, 2005-2008. BMC infectious diseases. 2015;15:369.
2. Dawood FS, Fiore A, Kamimoto L, Nowell M, Reingold A, Gershman K, et al. Influenza-associated pneumonia in children hospitalized with laboratory-confirmed influenza, 2003-2008. The Pediatric infectious disease journal. 2010;29(7):585-90.
3. Ang LW, Lim C, Lee VJ, Ma S, Tiong WW, Ooi PL, et al. Influenza-associated hospitalizations, Singapore, 2004-2008 and 2010-2012. Emerging infectious diseases. 2014;20(10):1652-60.
4. Decreto número 3518 de 2006. Por el cual se crea y reglamenta el Sistema de Vigilancia en Salud Pública y se dictan otras disposiciones, (Bogotá D.C., 9 de octubre de 2006).
5. Rodriguez H, Rueda C. Sistema de Información para la Vigilancia en Salud Pública: Propuesta Conceptual y Tecnológica. Organización Panamericana de la Salud. Ministerio de la Protección Social. Bogotá D.C., julio de 2005.
6. Lineamientos 2015 para la Prevención, Vigilancia y Control en Salud Pública. Instituto Nacional de Salud. Colombia, diciembre de 2014.
7. Grupo Enfermedades Transmisibles EdI. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública: Infección Respiratoria Aguda (IRA). Instituto Nacional de Salud. 2014. p. 1-50.
8. Feikin DR, Njenga MK, Bigogo G, Aura B, Aol G, Audi A, et al. Etiology and Incidence of viral and bacterial acute respiratory illness among older children and adults in rural western Kenya, 2007-2010. PloS one. 2012;7(8):e43656.
9. Malo DC, Pulido PA, Daza JA. Informe Final Infección Respiratoria Aguda Colombia, 2013. Instituto Nacional de Salud. 2013. p. 1-74.
10. Malo DC, Pulido PA, Barbosa J. Informe Final Infección Respiratoria Aguda Colombia, 2014. Instituto Nacional de Salud. 2014. p. 1-76.
11. Análisis de Situación de Salud de Poblaciones Diferenciales Relevantes. Ministerio de Salud y Protección Social. Dirección de Epidemiología y Demografía. Colombia. 2013.

12. Heikkinen T, Jarvinen A. The common cold. *Lancet*. 2003;361(9351):51-9.
13. Turner RB. Epidemiology, pathogenesis, and treatment of the common cold. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 1997;78(6):531-9; quiz 9-40.
14. Okur M, Erbey F, Yazicioglu O, Celik A, Tukenmez B, Sunnetcioglu M, et al. H1N1 influenza A virus Related Pneumonia and Respiratory Failure. *Indian journal of virology : an official organ of Indian Virological Society*. 2013;24(1):85-9.
15. Lee EH, Wu C, Lee EU, Stoute A, Hanson H, Cook HA, et al. Fatalities associated with the 2009 H1N1 influenza A virus in New York city. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2010;50(11):1498-504.
16. Ji H, Gu Q, Chen LL, Xu K, Ling X, Bao CJ, et al. Epidemiological and clinical characteristics and risk factors for death of patients with avian influenza A H7N9 virus infection from Jiangsu Province, Eastern China. *PloS one*. 2014;9(3):e89581.
17. Angus DC, Marrie TJ, Obrosky DS, Clermont G, Dremsizov TT, Coley C, et al. Severe community-acquired pneumonia: use of intensive care services and evaluation of American and British Thoracic Society Diagnostic criteria. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002;166(5):717-23.
18. Kendirli T, Demirkol D, Yildizdas D, Anil AB, Asilioglu N, Karapinar B, et al. Critically ill children with pandemic influenza (H1N1) in pediatric intensive care units in Turkey. *Pediatric critical care medicine : a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. 2012;13(1):e11-7.
19. Wang H, Fu C, Li K, Lu J, Chen Y, Lu E, et al. Influenza associated mortality in Southern China, 2010-2012. *Vaccine*. 2014;32(8):973-8.
20. Carmona JC. Infección respiratoria aguda en relación con la contaminación atmosférica y otros factores ambientales. *Archivos de Medicina (Col)*. 2009;9(1):69-79.
21. Castillo L. Informe del Evento Infección Respiratoria Aguda IRA, hasta el Periodo Epidemiológico XIII del año 2010. Instituto Nacional de Salud. Colombia. 2010. p. 1-19.
22. Gómez E. Comportamiento de la Infección Respiratoria Aguda. Semanas epidemiológicas 1 a 52 de 2011. Instituto Nacional de Salud. Colombia. 2011. p. 1-21.
23. Gallego A. Comportamiento de Infección Respiratoria Aguda. Semanas epidemiológicas 1 a 52 de 2012. Instituto Nacional de Salud. Colombia. 2012. p. 1-26.
24. Influenza (Seasonal) Fact sheet N°211. World Health Organization. March 2014. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>.

25. Ramilo O, Mejias A. It is time for a comprehensive analytical approach in clinical studies. Virus-versus-host interaction and influenza disease severity. American journal of respiratory and critical care medicine. 2014;189(4):385-6.
26. Influenza Update N° 228 World Health Organization.12 January 2015. Available from:
http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/2015_01_12_surveillance_update_228.pdf.
27. Influenza Update N° 229 World Health Organization.26 January 2015. Available from:
http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/2015_01_12_surveillance_update_229.pdf.
28. Influenza Update N° 230 World Health Organization.9 February 2015. Available from:
http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/2015_02_09_surveillance_update_230.pdf.
29. Influenza Update N° 231 World Health Organization.23 February 2015. Available from:
http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/2015_2_23_surveillance_update_231.pdf?ua=1.
30. Influenza Update N° 248 World Health Organization.19 October 2015. Available from:
http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/2015_10_19_surveillance_update_248.pdf?ua=1.
31. Influenza virus infections in humans World Health OrganizationFebruary 2014. Available from:
http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/virology_laboratories_and_vaccines/influenza_virus_infections_humans_feb14.pdf?ua=1.
32. Reddy D. Responding to pandemic (H1N1) 2009 influenza: the role of oseltamivir. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2010;65 Suppl 2:ii35-ii40.
33. Golovyan DM, Mossad SB. Prevention and treatment of influenza in the primary care office. Cleveland Clinic journal of medicine. 2014;81(3):189-99.
34. Jefferson T, Jones MA, Doshi P, Del Mar CB, Hama R, Thompson MJ, et al. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults and children. The Cochrane database of systematic reviews. 2014;4:CD008965.
35. Gurtler L. Virology of Human Influenza In: Kamps BS, Hoffmann C, Preiserin W, editors. Influenza Report 2006: Flying Publisher; 2006. p. 87-91.
36. Osore F, Gómez J, Suarez L, Cabezas C, Alave J, Maguiña C. Un nuevo virus A/H1N1, una nueva pandemia: Influenza un riesgo permanente para una humanidad globalizada. Acta méd peruana. 2009;26(2):97-130.

37. Trifonov V, Khiabanian H, Rabadan R. Geographic dependence, surveillance, and origins of the 2009 influenza A (H1N1) virus. *The New England journal of medicine*. 2009;361(2):115-9.
38. Ayora G. Influenza: Historia de una enfermedad. *Rev Biomed*. 1999;10(1):57-61.
39. Smith W, Andrewes CH, Laidlaw PP. A virus obtained from influenza patients. *The Lancet*. 1933;222(5732):66-8.
40. Kamps BS, Reyes G. Influenza 2006. In: Kamps BS, Hoffmann C, Preiserin W, editors. *Influenza Report 2006: Flying Publisher*; 2006. p. 17-47.
41. Kasowski EJ, Garten RJ, Bridges CB. Influenza pandemic epidemiologic and virologic diversity: reminding ourselves of the possibilities. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011;52 Suppl 1:S44-9.
42. Novel Swine-Origin Influenza AVIT, Dawood FS, Jain S, Finelli L, Shaw MW, Lindstrom S, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *The New England journal of medicine*. 2009;360(25):2605-15.
43. Dawood FS, Iuliano AD, Reed C, Meltzer MI, Shay DK, Cheng PY, et al. Estimated global mortality associated with the first 12 months of 2009 pandemic influenza A H1N1 virus circulation: a modelling study. *The Lancet Infectious diseases*. 2012;12(9):687-95.
44. Hoffmann C, Preiserin W. Clinical Presentation In: Kamps BS, Hoffmann C, Preiserin W, editors. *Influenza Report 2006: Flying Publisher*; 2006. p. 160-9.
45. Almond MH, McAuley DF, Wise MP, Griffiths M. Influenza-related pneumonia. *Clinical Medicine*. 2012;12(1):67-70.
46. Kim EA, Lee KS, Primack SL, Yoon HK, Byun HS, Kim TS, et al. Viral pneumonias in adults: radiologic and pathologic findings. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*. 2002;22 Spec No:S137-49.
47. Mertz D, Kim TH, Johnstone J, Lam PP, Science M, Kuster SP, et al. Populations at risk for severe or complicated influenza illness: systematic review and meta-analysis. *Bmj*. 2013;347:f5061.
48. Rothberg MB, Haessler SD, Brown RB. Complications of viral influenza. *The American journal of medicine*. 2008;121(4):258-64.
49. Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet*. 2011;377(9773):1264-75.
50. Murray RJ, Robinson JO, White JN, Hughes F, Coombs GW, Pearson JC, et al. Community-acquired pneumonia due to pandemic A(H1N1)2009 influenza virus and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* co-infection. *PloS one*. 2010;5(1):e8705.

51. Metersky ML, Masterton RG, Lode H, File TM, Jr., Babinchak T. Epidemiology, microbiology, and treatment considerations for bacterial pneumonia complicating influenza. *International journal of infectious diseases* : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases. 2012;16(5):e321-31.
52. Call SA, Vollenweider MA, Hornung CA, Simel DL, McKinney WP. Does this patient have influenza? *JAMA*. 2005;293(8):987-97.
53. Brouqui P, Vu Hai V, Nougairede A, Lagier JC, Botelho E, Ninove L, et al. Improving the diagnostic efficiency of H1N1 2009 pandemic flu: analysis of predictive clinical signs through a prospective cohort. *PLoS currents*. 2009;1:RRN1120.
54. Zyl G. Laboratory Findings In: Kamps BS, Hoffmann C, Preiserin W, editors. *Influenza Report 2006: Flying Publisher*; 2006. p. 150-9.
55. Chartrand C, Leeflang MM, Minion J, Brewer T, Pai M. Accuracy of rapid influenza diagnostic tests: a meta-analysis. *Annals of internal medicine*. 2012;156(7):500-11.
56. Harper SA, Bradley JS, Englund JA, File TM, Gravenstein S, Hayden FG, et al. Seasonal influenza in adults and children--diagnosis, treatment, chemoprophylaxis, and institutional outbreak management: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2009;48(8):1003-32.
57. Guidance for Clinicians on the Use of Rapid Influenza Diagnostic Tests Centers of Disease Control and Prevention. Available from: http://www.cdc.gov/flu/pdf/professionals/diagnosis/clinician_guidance_ridt.pdf.
58. Seo YB, Song JY, Choi MJ, Kim IS, Yang TU, Hong KW, et al. Etiology and clinical outcomes of acute respiratory virus infection in hospitalized adults. *Infection & chemotherapy*. 2014;46(2):67-76.
59. Feng L, Li Z, Zhao S, Nair H, Lai S, Xu W, et al. Viral etiologies of hospitalized acute lower respiratory infection patients in China, 2009-2013. *PloS one*. 2014;9(6):e99419.
60. Mahony JB, Petrich A, Smieja M. Molecular diagnosis of respiratory virus infections. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2011;48(5-6):217-49.
61. Kehl SC, Kumar S. Utilization of nucleic acid amplification assays for the detection of respiratory viruses. *Clinics in laboratory medicine*. 2009;29(4):661-71.
62. Beck ET, Henrickson KJ. Molecular diagnosis of respiratory viruses. *Future microbiology*. 2010;5(6):901-16.
63. Mahony J, Chong S, Merante F, Yaghoubian S, Sinha T, Lisle C, et al. Development of a respiratory virus panel test for detection of twenty human respiratory viruses by use of multiplex PCR and a fluid microbead-based assay. *Journal of clinical microbiology*. 2007;45(9):2965-70.

64. Kim JK, Jeon JS, Kim JW, Rheem I. Epidemiology of respiratory viral infection using multiplex rt-PCR in Cheonan, Korea (2006-2010). *Journal of microbiology and biotechnology*. 2013;23(2):267-73.
65. Gharabaghi F, Hawan A, Drews SJ, Richardson SE. Evaluation of multiple commercial molecular and conventional diagnostic assays for the detection of respiratory viruses in children. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2011;17(12):1900-6.
66. Butt SA, Maceira VP, McCallen ME, Stellrecht KA. Comparison of three commercial RT-PCR systems for the detection of respiratory viruses. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2014;61(3):406-10.
67. Ángulo ES. Vigilancia de Infección Respiratoria Aguda. Informe Final (Periodo Epidemiológico 13). Colombia 2009. Instituto Nacional de Salud. 2009. p. 1-21.
68. Quandelacy TM, Viboud C, Charu V, Lipsitch M, Goldstein E. Age- and sex-related risk factors for influenza-associated mortality in the United States between 1997-2007. *American journal of epidemiology*. 2014;179(2):156-67.
69. Cheng PY, Palekar R, Azziz-Baumgartner E, Iuliano D, Alencar AP, Bresee J, et al. Burden of influenza-associated deaths in the Americas, 2002-2008. *Influenza and other respiratory viruses*. 2015;9 Suppl 1:13-21.
70. Gran JM, Kacelnik O, Grijbovski AM, Aavitsland P, Iversen BG. Counting pandemic deaths: comparing reported numbers of deaths from influenza A(H1N1)pdm09 with estimated excess mortality. *Influenza and other respiratory viruses*. 2013;7(6):1370-9.
71. Armstrong GL, Brammer L, Finelli L. Timely assessment of the severity of the 2009 H1N1 influenza pandemic. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011;52 Suppl 1:S83-9.
72. Shrestha SS, Sverdlow DL, Borse RH, Prabhu VS, Finelli L, Atkins CY, et al. Estimating the burden of 2009 pandemic influenza A (H1N1) in the United States (April 2009-April 2010). *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011;52 Suppl 1:S75-82.
73. Chacon R, Mirza S, Rodriguez D, Paredes A, Guzman G, Moreno L, et al. Demographic and clinical characteristics of deaths associated with influenza A(H1N1) pdm09 in Central America and Dominican Republic 2009-2010. *BMC public health*. 2015;15:734.
74. Fajardo-Dolci GE, Hernandez-Torres F, Santacruz-Varela J, Rodriguez-Suarez J, Lamy P, Arboleya-Casanova H, et al. [Epidemiological profile of mortality due to human influenza A (H1N1) in Mexico]. *Salud publica de Mexico*. 2009;51(5):361-71.

75. Lyytikäinen O, Kuusi M, Snellman M, Virtanen M, Eskola J, Ronkko E, et al. Surveillance of influenza in Finland during the 2009 pandemic, 10 May 2009 to 8 March 2010. *Euro surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2011;16(27).
76. Chuang JH, Huang AS, Huang WT, Liu MT, Chou JH, Chang FY, et al. Nationwide surveillance of influenza during the pandemic (2009-10) and post-pandemic (2010-11) periods in Taiwan. *PloS one*. 2012;7(4):e36120.
77. Van Kerkhove MD, Hirve S, Koukounari A, Mounts AW, group HNpsw. Estimating age-specific cumulative incidence for the 2009 influenza pandemic: a meta-analysis of A(H1N1)pdm09 serological studies from 19 countries. *Influenza and other respiratory viruses*. 2013;7(5):872-86.
78. Ikonen N, Strengell M, Kinnunen L, Osterlund P, Pirhonen J, Broman M, et al. High frequency of cross-reacting antibodies against 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus among the elderly in Finland. *Euro surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2010;15(5).
79. Beyer WE, McElhaney J, Smith DJ, Monto AS, Nguyen-Van-Tam JS, Osterhaus AD. Cochrane re-arranged: support for policies to vaccinate elderly people against influenza. *Vaccine*. 2013;31(50):6030-3.
80. Assessment of the 2009 Influenza A (H1N1) Pandemic on Selected Countries in the Southern Hemisphere: Argentina, Australia, Chile, New Zealand and Uruguay. Developed by the Department of Health and Human Services in collaboration with other U.S. Government (USG) Departments for the White House National Security Council. August 26, 2009. Available from: <http://www.flu.gov/pandemic/global/final.pdf>.
81. Larrauri Camara A, Jimenez-Jorge S, Simon Mendez L, de Mateo Ontanon S, Sistema de Vigilancia de Gripe en E. [Surveillance of influenza pandemic (H1N1)2009 in Spain]. *Revista española de salud pública*. 2010;84(5):569-88.
82. Charu V, Chowell G, Palacio Mejia LS, Echevarria-Zuno S, Borja-Aburto VH, Simonsen L, et al. Mortality burden of the A/H1N1 pandemic in Mexico: a comparison of deaths and years of life lost to seasonal influenza. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011;53(10):985-93.
83. Vaillant L, La Ruche G, Tarantola A, Barboza P. Epidemiology of fatal cases associated with pandemic H1N1 influenza 2009. *Eurosurveillance* [Internet]. 2009; 14(33):[1-6 pp.]. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/>.
84. Shah NS, Greenberg JA, McNulty MC, Gregg KS, Riddell J, Mangino JE, et al. Severe Influenza in 33 US Hospitals, 2013-2014: Complications and Risk Factors for Death in 507 Patients. *Infection control and hospital epidemiology*. 2015;36(11):1251-60.
85. La carrera de las regiones. *Semana*. octubre 11, 2015:42-6.
86. Fischer WA, 2nd, Gong M, Bhagwanjee S, Sevransky J. Global burden of influenza as a cause of cardiopulmonary morbidity and mortality. *Global heart*. 2014;9(3):325-36.

87. Barrau M, Larrieu S, Cassadou S, Chappert JL, Dussart P, Najioullah F, et al. Hospitalized cases of influenza A(H1N1)pdm09 in the French territories of the Americas, July 2009-March 2010. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*. 2012;32(2):124-30.
88. Nandhini G, Sujatha S. Epidemiology of influenza viruses from 2009 to 2013 - A sentinel surveillance report from Union territory of Puducherry, India. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 2015;8(9):718-23.
89. Galante M, Garin O, Sicuri E, Cots F, Garcia-Altes A, Ferrer M, et al. Health services utilization, work absenteeism and costs of pandemic influenza A (H1N1) 2009 in Spain: a multicenter-longitudinal study. *PloS one*. 2012;7(2):e31696.
90. Keech M, Beardsworth P. The impact of influenza on working days lost: a review of the literature. *PharmacoEconomics*. 2008;26(11):911-24.
91. Arango AE, Jaramillo S, Perez J, Ampuero JS, Espinal D, Donado J, et al. Influenza-like illness sentinel surveillance in one hospital in Medellin, Colombia. 2007-2012. *Influenza and other respiratory viruses*. 2015;9(1):1-13.
92. Remolina YA, Ulloa MM, Vargas H, Diaz L, Gomez SL, Saavedra A, et al. Viral Infection in Adults with Severe Acute Respiratory Infection in Colombia. *PloS one*. 2015;10(11):e0143152.
93. Hsu J, Santesso N, Mustafa R, Brozek J, Chen YL, Hopkins JP, et al. Antivirals for treatment of influenza: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Annals of internal medicine*. 2012;156(7):512-24.
94. Muthuri SG, Myles PR, Venkatesan S, Leonardi-Bee J, Nguyen-Van-Tam JS. Impact of neuraminidase inhibitor treatment on outcomes of public health importance during the 2009-2010 influenza A(H1N1) pandemic: a systematic review and meta-analysis in hospitalized patients. *The Journal of infectious diseases*. 2013;207(4):553-63.
95. Muthuri SG, Venkatesan S, Myles PR, Leonardi-Bee J, Al Khuwaitir TS, Al Mamun A, et al. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in reducing mortality in patients admitted to hospital with influenza A H1N1pdm09 virus infection: a meta-analysis of individual participant data. *The Lancet Respiratory medicine*. 2014;2(5):395-404.
96. Viasus D, Pano-Pardo JR, Pachon J, Riera M, Lopez-Medrano F, Payeras A, et al. Timing of oseltamivir administration and outcomes in hospitalized adults with pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus infection. *Chest*. 2011;140(4):1025-32.
97. Fry AM, Goswami D, Nahar K, Sharmin AT, Rahman M, Gubareva L, et al. Efficacy of oseltamivir treatment started within 5 days of symptom onset to reduce influenza illness duration and virus shedding in an urban setting in Bangladesh: a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet Infectious diseases*. 2014;14(2):109-18.

98. Aoki FY, Macleod MD, Paggiaro P, Carewicz O, El Sawy A, Wat C, et al. Early administration of oral oseltamivir increases the benefits of influenza treatment. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2003;51(1):123-9.
99. Thomas RE. Is influenza-like illness a useful concept and an appropriate test of influenza vaccine effectiveness? *Vaccine*. 2014;32(19):2143-9.
100. Dalhatu IT, Medina-Marino A, Olsen SJ, Hwang I, Gubio AB, Ekanem EE, et al. Influenza viruses in Nigeria, 2009-2010: results from the first 17 months of a national influenza sentinel surveillance system. *The Journal of infectious diseases*. 2012;206 Suppl 1:S121-8.
101. Portuguese Laboratory Network for the Diagnosis of Influenza I. Contribution of the Portuguese Laboratory Network for the Diagnosis of Influenza A(H1N1)pdm09 infection during the 2009/10 and 2010/11 influenza seasons. *Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2012;17(27).
102. Meerhoff TJ, Simaku A, Ulqinaku D, Torosyan L, Gribkova N, Shimanovich V, et al. Surveillance for severe acute respiratory infections (SARI) in hospitals in the WHO European region - an exploratory analysis of risk factors for a severe outcome in influenza-positive SARI cases. *BMC infectious diseases*. 2015;15:1.
103. Hirve S, Chadha M, Lele P, Lafond KE, Deoshatwar A, Sambhudass S, et al. Performance of case definitions used for influenza surveillance among hospitalized patients in a rural area of India. *Bulletin of the World Health Organization*. 2012;90(11):804-12.
104. Otomaru H, Kamigaki T, Tamaki R, Opinion J, Santo A, Daya E, et al. Influenza and other respiratory viruses detected by influenza-like illness surveillance in Leyte Island, the Philippines, 2010-2013. *PloS one*. 2015;10(4):e0123755.
105. Fu Y, Pan L, Sun Q, Zhu W, Zhu L, Ye C, et al. The clinical and etiological characteristics of influenza-like illness (ILI) in outpatients in Shanghai, China, 2011 to 2013. *PloS one*. 2015;10(3):e0119513.
106. Mainassara HB, Lagare A, Tempia S, Sidiki A, Issaka B, Abdou Sidikou B, et al. Influenza Sentinel Surveillance among Patients with Influenza-Like-Illness and Severe Acute Respiratory Illness within the Framework of the National Reference Laboratory, Niger, 2009-2013. *PloS one*. 2015;10(7):e0133178.
107. Sultankulova KT, Chervyakova OV, Kozhabergenov NS, Shorayeva KA, Storchkov VM, Orynbayev MB, et al. Comparative evaluation of effectiveness of IAVchip DNA microarray in influenza A diagnosis. *TheScientificWorldJournal*. 2014;2014:620580.
108. Beaute J, Zucs P, Korsun N, Bragstad K, Enouf V, Kossyvakis A, et al. Age-specific differences in influenza virus type and subtype distribution in the 2012/2013 season in 12 European countries. *Epidemiology and infection*. 2015;143(14):2950-8.

109. Liu T, Li Z, Zhang S, Song S, Julong W, Lin Y, et al. Viral Etiology of acute respiratory tract infections in hospitalized children and adults in Shandong Province, China. *Virology journal*. 2015;12(1):168.
110. Xiao NG, Zhang B, Duan ZJ, Xie ZP, Zhou QH, Zhong LL, et al. [Viral etiology of 1165 hospitalized children with acute lower respiratory tract infection]. *Zhongguo dang dai er ke za zhi* = Chinese journal of contemporary pediatrics. 2012;14(1):28-32.
111. Lau LL, Cowling BJ, Fang VJ, Chan KH, Lau EH, Lipsitch M, et al. Viral shedding and clinical illness in naturally acquired influenza virus infections. *The Journal of infectious diseases*. 2010;201(10):1509-16.
112. Zitterkopf NL, Leekha S, Espy MJ, Wood CM, Sampathkumar P, Smith TF. Relevance of influenza a virus detection by PCR, shell vial assay, and tube cell culture to rapid reporting procedures. *Journal of clinical microbiology*. 2006;44(9):3366-7.
113. Tenorio A, Erios JM, Rodríguez E, Bermejo JF, Dominguez M, Vega T, et al. Vigilancia de la gripe mediante diagnóstico molecular. *Revista Española de quimioterapia* 2009;22(4):214-20.
114. Suess T, Remschmidt C, Schink SB, Schweiger B, Heider A, Milde J, et al. Comparison of shedding characteristics of seasonal influenza virus (sub)types and influenza A(H1N1)pdm09; Germany, 2007-2011. *PloS one*. 2012;7(12):e51653.
115. Na S, Chong YP, Kim MN, Kim WY, Kim W, Hong SB, et al. Duration of viral shedding in patients admitted to hospital with pandemic influenza A/H1N1 2009 infection. *Journal of medical virology*. 2011;83(1):5-9.
116. Fielding JE, Kelly HA, Mercer GN, Glass K. Systematic review of influenza A(H1N1)pdm09 virus shedding: duration is affected by severity, but not age. *Influenza and other respiratory viruses*. 2014;8(2):142-50.
117. Lee N, Chan PK, Hui DS, Rainer TH, Wong E, Choi KW, et al. Viral loads and duration of viral shedding in adult patients hospitalized with influenza. *The Journal of infectious diseases*. 2009;200(4):492-500.
118. Shieh WJ, Blau DM, Denison AM, DeLeon-Carnes M, Adem P, Bhatnagar J, et al. 2009 pandemic influenza A (H1N1): pathology and pathogenesis of 100 fatal cases in the United States. *The American journal of pathology*. 2010;177(1):166-75.
119. Mauad T, Hajjar LA, Callegari GD, da Silva LF, Schout D, Galas FR, et al. Lung pathology in fatal novel human influenza A (H1N1) infection. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2010;181(1):72-9.
120. Gill JR, Sheng ZM, Ely SF, Guinee DG, Beasley MB, Suh J, et al. Pulmonary pathologic findings of fatal 2009 pandemic influenza A/H1N1 viral infections. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2010;134(2):235-43.

121. Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, et al. Histopathological and immunohistochemical findings of 20 autopsy cases with 2009 H1N1 virus infection. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2012;25(1):1-13.
122. Barnes M, Heywood AE, Mahimbo A, Rahman B, Newall AT, Macintyre CR. Acute myocardial infarction and influenza: a meta-analysis of case-control studies. *Heart.* 2015;101(21):1738-47.
123. Casado I, Martinez-Baz I, Floristan Y, Chamorro J, Ezpeleta C, Castilla J, et al. Cause of death in hospitalized patients with laboratory-confirmed influenza. *Anales del sistema sanitario de Navarra.* 2015;38(2):263-8.
124. Lucas S. Predictive clinicopathological features derived from systematic autopsy examination of patients who died with A/H1N1 influenza infection in the UK 2009-10 pandemic. *Health technology assessment.* 2010;14(55):83-114.
125. Denison AM, Blau DM, Jost HA, Jones T, Rollin D, Gao R, et al. Diagnosis of influenza from respiratory autopsy tissues: detection of virus by real-time reverse transcription-PCR in 222 cases. *The Journal of molecular diagnostics : JMD.* 2011;13(2):123-8.
126. Archer B, Cohen C, Naidoo D, Thomas J, Makunga C, Blumberg L, et al. Interim report on pandemic H1N1 influenza virus infections in South Africa, April to October 2009: epidemiology and factors associated with fatal cases. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin.* 2009;14(42).
127. Noh JY, Lee J, Choi WS, Song JY, Seo YB, Kim IS, et al. Concurrent tuberculosis and influenza, South Korea. *Emerging infectious diseases.* 2013;19(1):165-7.
128. Park Y, Chin BS, Han SH, Yun Y, Kim YJ, Choi JY, et al. Pandemic Influenza (H1N1) and Mycobacterium tuberculosis Co-infection. *Tuberculosis and respiratory diseases.* 2014;76(2):84-7.
129. Elting LS, Whimbey E, Lo W, Couch R, Andreeff M, Bodey GP. Epidemiology of influenza A virus infection in patients with acute or chronic leukemia. *Supportive care in cancer : official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer.* 1995;3(3):198-202.
130. Ministerio de la Protección Social. Protocolo de atención y manejo de casos de infección por virus pandémico AH1N1/09 y sus contactos. Colombia. 2009. p.1-57.
131. Cortés JA, Álvarez MI, Ardila E, Aguiar L, Castaño JC, Castellanos J, Castillo JS, Castro M, Cerón JA, Damián J, Gómez J, González MM, Mariño MC, Medina MS, Mendoza H, Navarrete N, Torres G. Guía integral de estudio y manejo de casos y sus contactos para enfermedad similar a Influenza, incluido el diagnóstico y el manejo clínico, profiláctico y terapéutico. *Infectio*, 2007; 11: 215-26.